

Aus der Urologischen Klinik der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. DETTMAR)

NACHWEIS VON TUMORZELLEN IM BLUT BEI OPERATION DES
HYPERNEPHROIDEN NIERENKARZINOMS
MITTELS DNS-CYTOPHOTOMETRIE.

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Bärbel Dahnke, geb. Haase

1980



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41533920_0016

Aus der Urologischen Klinik der Universität Düsseldorf
(Direktor: Prof. Dr. H. DETTMAR)

NACHWEIS VON TUMORZELLEN IM BLUT BEI OPERATION DES
HYPERNEPHROIDEN NIERENKARZINOMS
MITTELS DNS-CYTOPHOTOMETRIE.

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin.

Der Medizinischen Fakultät der Universität Düsseldorf
vorgelegt von

Bärbel Dahnke, geb. Haase

1980



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf.

Der Dekan
der Medizinischen Fakultät
der Universität Düsseldorf

Referent

gez.: Prof. Dr. Boeminghaus

Korreferent

gez.: Prof. Dr. H.-L. Krüskemper

gez.: Prof. Dr. Dr. Pfitzer

Meinem Vater gewidmet!

NACHWEIS VON TUMORZELLEN IM BLUT BEI
OPERATION DES HYPERNEPHROIDEN NIEREN-
KARZINOMS MITTELS DNS-CYTOPHOTOMETRIE

Herrn Prof. Dr. F. Boeminghaus danke ich für die Überlassung des Themas und die freundliche Unterstützung.

Herrn Prof. Dr. Dr. P. Pfitzer möchte ich für die Möglichkeit, die Messungen in seiner Abteilung durchzuführen, die stete Hilfsbereitschaft und freundliche Unterstützung beim Anfertigen der Arbeit und ihrer Durchsicht danken.

Weiter danke ich Frau König, Frau Biesemann und Fräulein Kramer für ihre entgegenkommende Hilfsbereitschaft beim Anfertigen der Lösungen und Präparate.

Inhaltsübersicht

1. Einleitung
2. Material und Methode
 - 2.1. Material
 - 2.2. Methode
 - 2.2.1. Nephrektomie über einen retroperitonealen Zugang
 - 2.2.2. Nephrektomie über einen transperitonealen Zugang
 - 2.2.3. Imprint-Präparate
 - 2.2.4. Tumorzellsuspensionen
 - 2.2.5. Blutproben
 - 2.2.6. DNS-Cytophotometrie
3. Ergebnisse
 - 3.1. Zusammenstellung der histologischen Befunde
 - 3.2. Durch Scanning-Cytophotometrie gewonnene Histogramme
 - 3.2.1. Bestimmung der DNS-Stammlinien der Tumoren
 - 3.2.1.1. Sicher aneuploide Tumoren
 - 3.2.1.2. Diploide, bzw. pseudodiploide Tumoren
 - 3.2.1.3. Tumoren mit deutlich ausgeprägtem Hinweis auf zwei Stammlinien
 - 3.2.2. Einteilung der einzelnen hypernephroiden Karzinome nach DNS-Stammlinien
 - 3.2.3. Vergleich der Profile von Imprint- und Suspensions-histogrammen derselben Tumoren
 - 3.2.4. Identifizierung morphologisch verdächtiger Zellen im peripheren Blut anhand ihres abweichenden DNS-Gehaltes
 - 3.2.4.1. Blutproben der Fälle mit aneuploidem Tumor
 - 3.2.4.2. Blutproben der Fälle mit diploidem, bzw. pseudo-diploidem Tumor

- 4. Diskussion
- 4.1. Die hämatogene Metastasierung des hypernephroiden Nierenkarzinoms
- 4.2. DNS-Cytophotometrie von Tumorzellen
- 4.3. Auftreten zirkulierender Tumorzellen
- 5. Zusammenfassung

1. EINLEITUNG

Die Forderung nach transperitonealem Vorgehen bei Nephrektomie einer Niere mit einem hypernephroiden Karzinom liegt darin begründet, daß nach Meinung vieler Autoren (BRÜHL, 1973; GEMPP, 1970; SIGL u. HELD, 1963) mit dieser Operationsmethode eine optimale Freilegung des Operationsgebietes ohne zu großen Druck auf den Tumor möglich sei. Die Gefahr der Tumorzellaussaat ins strömende Blut und damit einer Metastasierung sei bei dem lumbalen, bzw. retroperitonealen Zugang hoch und stelle trotz der von GEMPP (1970) festgestellten, wenn auch in geringem Maße kleineren operativen und klinischen Belastung für den Patienten ein erhöhtes Risiko dar.

Aber nicht nur während der Mobilisation des Tumors und des Anlegens der Nierenstielklemme, sondern schon vor dem operativen Eingriff, also beim Lagern und Waschen (GEMPP, 1970; JONASSON, 1961; ROBERTS, 1960; ROBERTS, 1962), wurden Tumorzellen ("shower") im peripheren Blut nachgewiesen. Die Angaben in der Literatur über die Häufigkeit schwanken zwischen 5 % und über 95 % (ALEXANDER, 1960; DEMELLO, 1963).

Wie von vielen Autoren bereits wieder revidiert wurde, handelt es sich jedoch bei einem großen Anteil der nach morphologischen Kriterien als maligne identifizierten Zellen um Megakaryozyten, reaktive Lymphozyten, monozytoide Zellen, oder nicht einzuordnend und vorsichtig als "anormal" bezeichnete Zellen im Blut (ALEXANDER, 1960; CLIMIE, 1961; HERBEUVAL, 1965; GOLDBLATT, 1965).

Aufgabe dieser Arbeit ist es, die vor, während und nach einer Nephrektomie, sowohl über einen retroperitonealen, als auch in fünf Fällen über einen transperitonealen Zugang, im peripheren Blut entdeckten "anormalen" Zellen mit Hilfe der Scanning-Cytophotometrie nach ihrem vom normalen diploiden 2C-Wert der Lymphozyten abweichenden DNS-Gehalt zu identifizieren.

Voraussetzung der quantitativen DNS-Messung ist die Tatsache, daß Tumorkerne häufig eine im Gegensatz zu normalen Kernen veränderte Chromosomenzahl besitzen (KOLLER, 1972). Die erhöhte Chromosomenzahl äußert sich bei cytophotometrischen Messungen der DNS in einer Vergrößerung der absoluten Absorptionswerte der FEULGEN-gefärbten Kerne im Vergleich zu den Lymphozyten mit ihrem diploiden Chromosomensatz (ATKIN u. RICHARDS, 1965; ATKIN et al., 1966; BADER, 1953; BAUKE u. SCHÖFFLING, 1968).

2. MATERIAL UND METHODE

2.1. MATERIAL

Der vorliegenden Untersuchung lag ein Kollektiv von 22 an einem hypernephroiden Karzinom erkrankten Patienten zugrunde.

Präoperativ wurde das Vorliegen eines Nierentumors durch Kontrollen der Blutsenkungsgeschwindigkeit und des Blutdruckes, durch mehrfache Anfertigung eines Urinstatus, sowie durch Röntgendiagnostik, Aortographie und Cavographie verifiziert. Die präoperativen Untersuchungsergebnisse sind nachfolgend in einer Tabelle zusammengestellt (Tab. I).

Die Patienten wurden ausnahmslos durch chirurgische Intervention therapiert, in 17 Fällen mittels Nephrektomie über einen retroperitonealen, in 5 Fällen über einen transperitonealen Zugang.

Fall	Alter/Geschl.	Blutkontrollen	Urinkontrollen	Röntgenkontrollen			
		RR BSG	Hämaturie Histol.	Tumorlokal.	Metastas.	Cavo-	graphie

F.B. 68	♂	↑ 69/112	++	Pap II	li-mitte	Lunge	o
M.S. 62	♀	↑ 23/50	o	Pap II	li-oben	o	o
P.H. 65	♂	↑ 25/68	+	Pap II	li-oben	o	o
H.U. 63	♂	↑ 17/54	+	-	li-oben	o	o
H.C. 65	♂	o.B.22/53	++	-	re-unten	o	o
H.H. 72	♂	↑ 43/76	++	-	li-oben	Lunge	+
T.M. 62	♂	↑ 47/80	++	Pap IV	li-oben	Lunge	+
G.S. 51	♂	↑ 43/68	+	Pap II	re-unten	Lunge	o
P.K. 44	♂	o.B.41/72	+	-	li-unten	o	o
P.B. 63	♂	↑ o.B.	++	Pap II	li-oben	Lunge	+
K.G. 67	♀	↑ 85/138	++	-	li-unten	dissem.	o
M.H. 66	♂	↑ 101/124	++	Pap II	li-oben	o	o
K.C. 54	♂	↑ 21/50	++	Pap II	li-unten	Knochen	o
S.M. 57	♀	o.B.69/90	o	-	li-unten	o	o
G.K. 61	♂	↑ 35/55	o	-	li-oben	Haut	o
A.G. 52	♂	↑ 115/130	o	Pap II	li-oben	o	o
H.M. 64	♂	o.B.76/112	++	Pap II	re-oben	o	o
L.G. 65	♂	↑ 65/89	++	Pap II	re-unten	o	o
A.E. 66	♀	o.B.13/30	++	-	li-unten	o	o
K.K. 56	♂	↑ 23/47	+	-	li-unten	o	o
W.N. 72	♂	↑ 22/50	+	o	li-oben	o	o
F.O. 60	♂	o.B.36/64	+	o	li-oben	Lunge	o

(61,6) (4♀/18♂)

(5% Pap IV) (18-links
4-rechts
12-oben
9-unten
1-mitte)

(9 +)

(3 +)

Tab.I: Präoperative Untersuchungsergebnisse

Zeichenerklärung: o negativ
- keine Angaben
Urin ++ Makrohämaturie
+ Mikrohämaturie
Röntgen li links
re rechts

Cavographie + Tumorzapfen in der V. cava

2.2. METHODEN

2.2.1. NEPHREKTOMIE ÜBER EINEN RETROPERITONEALEN ZUGANG

Die Lagerung des Patienten wird von der Lokalisation des Tumors und seiner Beziehung zum Nierenstiel abhängig gemacht. Hat das Hypernephrom den oberen Pol oder das mittlere Drittel befallen, so wird der Patient in halbschräge Lagerung gebracht und der Gefäßstiel von unten angegangen. Liegt der Tumor im unteren Teil der Niere, kann man den Gefäßstiel besser von oben erreichen und lagert den Patienten in typischer Seitenlagerung. Der Schnitt geht dann von dorsal im 9. oder 10. ICR weit nach medial. Nach Durchtrennung der Muskulatur und Faszie werden die Bauchwände deckenwärts gezogen. Das Bauchfell wird nach medial gedrängt, der Harnleiter erkennbar und distal abgetrennt. Das abgeschobene Peritoneum wird ebenfalls deckenwärts gezogen. Nun wird blind, also ohne optische Kontrolle, digital der Nierenstiel aufgesucht und durch eine von oben oder von vorne eingebrachte Nierenstielklemme abgeklemmt. Die weitere Präparation erfolgt dann in üblicher Weise. Das Entscheidende bei dieser blinden Präparation des Nierenstiels ist der weit nach medial gezogene Schnitt und der Zug der Bauchdecken und des Peritoneums zur Saaldecke hin.

2.2.2. NEPHREKTOMIE ÜBER EINEN TRANSPERITONEALEN ZUGANG

Über einen Pararektal-Oberbauchquer- oder Medianschnitt werden die Haut, das Unterhautfettgewebe, die Muskulatur der vorderen Bauchwand und die Faszie durchtrennt. Der Darm wird vor die Bauchdecke luxiert, und dann folgt die Eröffnung des hinteren Peritoneums. Nach Absetzen des Harnleiters wird die Niere durch Abklemmen der ventral erscheinenden Nierengefäße aus dem Kreislauf ausgeschlossen. Die weitere Präparation erfolgt in üblicher Weise.

Die durch Nephrektomie gewonnenen Operationspräparate wurden in der gewohnten Art histologisch untersucht. Gleichzeitig wurde ein Imprint- und ein Suspensionspräparat des Tumors angefertigt.

2.2.3. IMPRINT-PRÄPARAT

Das hypernephroide Karzinom wurde unter geringst möglicher Anwendung von Druck mit einem Skalpell angeschnitten, um eine Verfälschung der Ergebnisse zu vermeiden, welche eventuell aus Tumorzellquetschungen resultieren könnte. Von der Tumorschnittfläche wurde ein sogenanntes Imprint-Präparat hergestellt, indem ein Objektträger auf die Schnittfläche gelegt, anschließend mit "Merckofix"-Spray fixiert und nach FEULGEN gefärbt wurde.

Dabei ließ es sich in manchen Fällen nicht vermeiden, daß einige Präparate wegen ungenügender Anfärbung der Kerne gesondert nachgefärbt werden mußten. Das ist wahrscheinlich die Ursache dafür, daß in einigen Fällen der normale diploide 2C-Wert der Lymphozyten innerhalb desselben Falles in Imprint-, Suspensions- und Blutpräparaten nicht übereinstimmt.

Anschließend wurden die Präparate in Eukitt (nD, 1,49) eingedeckt.

2.2.4. TUMORZELLSUSPENSION

Zur Herstellung einer Suspension von Tumorzellen wurde eine etwa erbsgroße Probe aus der Tumorschnittfläche entnommen, mit einem Skalpell zerkleinert und mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt. Nach Filtration durch Mull und fünfminütigem Zentrifugieren in der Cyto-Zentrifuge (SHANDON) bei 1000 U/min wurde das Sediment auf der 28 mm² großen, kreisförmigen Fläche des Objektträgers ebenfalls mit "Merckofix"-Spray fixiert und nach FEULGEN gefärbt.

Da aus der Literatur hervorgeht, daß solide Tumoren gelegentlich verschiedene DNS-Muster in differenten Abschnitten aufweisen (HAASE, 1979), wurden die Proben für die Zellsuspensionen an den Imprints analogen Stellen entnommen, um vergleichbare Meßwerte zu erhalten.

2.2.5. BLUTPROBEN

Bei allen Patienten wurden prae-, intra- und postoperativ nach einem einheitlichen Zeitplan mehrere Blutproben entnommen, welche für den cytophotometrischen Nachweis von Tumorzellen verwendet wurden. Die Entnahme der Blutproben erfolgte entweder durch Punktion der Vena cubitalis, sie werden nachfolgenden mit p = peripher gekennzeichnet, oder durch einen unmittelbar praeoperativ gelegten Katheter in der Vena Cava inf., sie werden mit z = zentral gekennzeichnet.

Zentrales Blut konnte aus technischen Gründen nur bei fünf Patienten gewonnen werden. Zur Differenzierung eventueller Tumorzellausschwemmungen in den einzelnen Phasen vor, während und nach der Operation wurden die Blutproben bei allen Patienten identisch nach folgendem Zeitplan entnommen:

1. Phase:

1. Blutprobe: bei Ankunft im Operationssaal
2. Blutprobe: nach Lagerung auf dem Op-Tisch
(bereits in Narkose)
3. Blutprobe: während der Hautdesinfektion
4. Blutprobe: nach dem Hautschnitt
5. Blutprobe: nach Durchtrennung der Faszie

2. Phase:

6. Blutprobe: während des manuellen Aufsuchens des Gefäßstiels und Anlegens der Nierenstielklemme
7. Blutprobe: nach Wundverschluß.

Je 5 ml venöses Blut wurden mit einer vorher angefertigten Lösung aus 0,05 ml Phytohämagglutinin-P (1:10 verdünnt) und 0,2 ml Lique-min 5000 (1:10 verdünnt) gemischt.

PHA-P, ein gereinigtes, steriles und hochpotentes Protein, agglutiniert die Erythrozyten der menschlichen und einiger tierischen Blutgruppen. Der Zusatz des Antikoagulans Lique-min zu dem in sterilem Wasser gelösten PHA-P optimiert die Wirkung bei der Trennung der Erythrozyten von den weißen Blutzellen.

Zur Abtrennung der Erythrozyten wurde die Mischung eine Stunde stehengelassen, dann wurde der Überstand abpipettiert und fünf Minuten bei 1000 U/min in der Zyto-Zentrifuge (SHANDON) zentrifugiert. Anschließend erfolgte die gleiche Behandlung wie mit Imprint- und Suspensionspräparaten.

2.2.6. DNS-CYTOPHOTOMETRIE

Zur Identifizierung von Tumorzellen in den Imprint-, Suspensions- und Blutpräparaten wurde mit dem Scanning-Mikroskopphotometer (Firma ZEISS) der eventuell vom diploiden Wert normaler Zellen abweichende DNS-Gehalt der Tumorzellkerne untersucht. Unter Benutzung des Prozessrechners PDP-12 der Firma DIGITAL-EQUIPMENT CORPORATION erfolgte die Messung mit dem Verlaufsfiltermonochromator bei einer Wellenlänge von 570 nm. Meßblende und Schrittgröße betrugen 0,5 μ . Als Programm diente APAMOS II, der DNS-Gehalt wurde als Totalextinktion in relativen Arbeitseinheiten (AE) registriert. Als diploider 2C-Standard wurde der mittlere Extinktionswert von 10 zur Kontrolle gemessenen Lymphozyten festgelegt. Die Werte der Lymphozyten wurden in den Histogrammen auf der Abszisse nach unten (weiß) eingetragen.

3. ERGEBNISSE

3.1. ZUSAMMENSTELLUNG DER HISTOLOGISCHEN BEFUNDE

Aus den Befunden des Pathologischen Institutes der Universität
Düsseldorf konnte folgendes entnommen werden:

(s. Tab. 2)

Fall	max. Tumor- durchmesser in cm	Gefäßein- bruch	Thrombus in V. ren.	Einbruch in Nierenbecken	Kapseldurch- bruch	Polymorphie
F.B.	-	+	o	+	o	+
M.S.	7	o	o	o	o	(+)
P.H.	6	o	o	o	o	+
H.U.	7	+	o	o	o	+
H.C.	5,5	o	o	+	o	+
H.H.	5,5	+	+	+	+	+
T.M.	9	+	+	+	o	+
G.S.	10	+	o	o	+	+
P.K.	5	o	o	o	o	o
P.B.	9	+	+	o	o	+
K.G.	10	o	o	+	+	+
M.H.	7	o	o	+	o	+
K.C.	7	(+)	o	o	o	+
S.M.	14	o	o	o	o	o
G.K.	5	+	o	+	o	o
A.G.	7	o	o	o	+	(+)
H.M.	2	o	o	o	o	o
L.G.	5	o	o	o	o	(+)
A.E.	3	+	o	o	o	o
K.K.	5	o	o	+	o	(+)
W.N.	4	o	o	+	o	o
F.O.	7	+	o	+	+	+
	6,7	9 + 1 fragl.	3 +	10 +	5 +	12 + 4 fragl.

Tab. 2

Dem Direktor des Pathologischen Institutes der Universität Düsseldorf, Herrn Prof. Dr. W. Hort, möchten wir an dieser Stelle für die freundliche Unterstützung danken.

3.2. DURCH SCANNING-CYTOPHOTOMETRIE GEWONNENE HISTOGRAMME

3.2.1. BESTIMMUNG DER DNS-STAMMLINIE DER TUMOREN ANHAND DER IMPRINT- UND SUSPENSIONSHISTOGRAMME IM VERGLEICH ZUM NORMALEN 2C-WERT DER LYMPHOZYTEN

Entsprechend den vorliegenden Ergebnissen von verschiedenen Tumoren ist zu erwarten, daß ein Teil der zu untersuchenden Fälle mit ihrer Tumorstammlinie im sicher aneuploiden, ein Teil im diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich liegen wird und auch Fälle mit zwei Stammlinien vorkommen könnten.

In 10 Fällen wurden sowohl Imprint- als auch Suspensionspräparate untersucht, in je 6 Fällen nur entweder Imprint- oder Suspensionspräparat.

3.2.1.1. SICHER ANEUPLOIDE TUMOREN (Abb. 1)

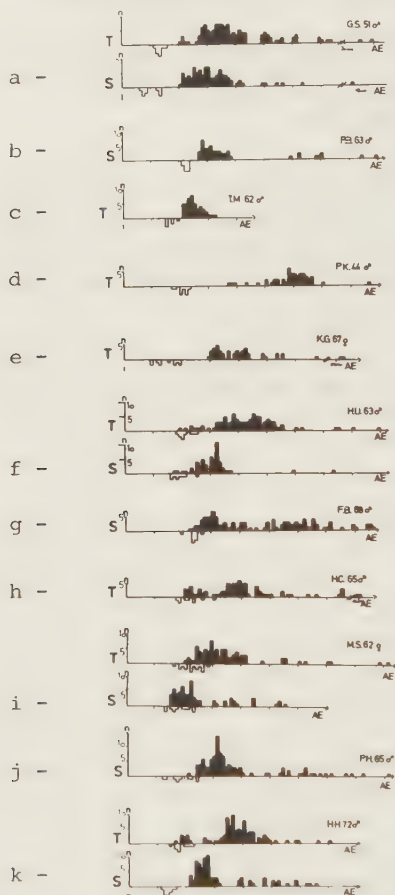


Abb. 1

etwa 5700 AE. Einzelwerte wurden zwischen 12000 und 18000 AE gemessen.

Die DNS-Stammlinie des Tumors liegt somit zwischen 2C und 4C, und der Tumor ist sicher aneuploid.

Fall G.S. (Abb. 1 a)

(P)

Der normale diploide 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 2700 ± 300 Arbeitseinheiten (AE). Im Histogramm des Imprints findet sich eine Häufung breitsstreuender Werte zwischen 4000 und 9000 AE ohne sicheren Gipfel. Zwischen 10000 und 15000 AE liegen weitere Einzelwerte. Die Anzahl von 100 Meßwerten ist hier zu gering, um eine sichere Aussage über die Stamm-
linie des Tumors machen zu können. Es dürfte sich um eine sehr heterogene Zellpopulation handeln. Im Suspensionshistogramm bietet sich ein ähnliches Bild. Der Tumor liegt somit im aneuploiden Bereich zwischen 3C und 7C.

Fall P.B. (Abb. 1b)

(Y)

Der normale DNS-Wert der Lymphozyten liegt bei 4500 ± 300 AE. Eine Häufung von Tumorwerten findet sich zwischen 5000 und 8000 AE mit einem schmalen Gipfel bei

Fall T.M. (Abb. 1c)

(V)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 3400 ± 400 AE. Die Häufung der Werte der Tumorzellen findet sich zwischen 4000 und 7000 AE mit einem Tumormaximum bei 5000 AE.

Es liegt hier ein sicher aneuploider Tumor vor, dessen DNS-Stammlinie zwischen dem 2C- und dem 4C-Wert liegt.

Fall P.K. (Abb. 1d)

(CII)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 4000 ± 500 AE. Eine Häufung der Werte im Imprinthistogramm findet sich zwischen 10000 und 14000 AE mit einzelnen Streuwerten sowohl nach links bis 7000 AE, als auch nach rechts bis 18000 AE. Der Tumor liegt damit sicher im aneuploiden Bereich mit einer DNS-Stammlinie zwischen dem 4C- und dem 8C-Wert.

Fall K.G. (Abb. 1e)

(S)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 3000 ± 1000 AE. Ein erster Gipfel des Tumors erhebt sich zwischen den Werten 6000 und 7000 AE, ein zweiter zwischen 8000 und 9000 AE. Zellen mit höherem DNS-Gehalt wurden bis zu einem maximalen Wert von 30000 AE gemessen. Die Maxima werden als Hinweis auf einen sicher im aneuploiden Bereich liegenden Tumor gewertet.

Ob es sich eventuell um zwei verschiedene Stammlinien handelt, kann nicht entschieden werden. Es fehlen hierfür die getrennten G2-Werte und das vergleichbare Histogramm einer Suspension zur Absicherung.

Fall H.U. (Abb. 1f)

(Z)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt im Imprinthistogramm bei 4000 ± 500 AE. Nach flachem Verlauf der Werte zwischen 4000 und 6000 AE

erscheint im Tumorprofil des Imprints eine Häufung von Werten zwischen 6000 und 11000 AE mit kleineren Gipfeln bei 7000 und 9000 AE. Einzelne höhere Werte wurden bis 30000 AE gemessen. Eine oder mehrere Stammlinien daraus abzuleiten, ist bei diesem Verteilungsmuster wohl nicht gerechtfertigt, jedoch liegt der Tumor sicher im aneuploiden Bereich zwischen 3C und 6C. Eindeutiger ist der Befund im Suspensionshistogramm. Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 3800 ± 500 AE. Die Werte des Tumors finden sich gehäuft zwischen 3500 und 8000 AE mit dem Maximum bei 6500 AE. Es wurden nur zwei hohe Werte zwischen 12000 und 15000 AE gefunden.

Dieses Histogramm zeigt einen sicher aneuploiden Tumor mit einer Stammlinie im Bereich zwischen 3C und 4C.

Fall F.B. (Abb. 1g)

(M)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 4800 ± 300 AE. Das erste Tumormaximum liegt bei etwa 6000 AE. Eine weitere Häufung von Werten findet sich zwischen 11000 und 13000 AE. Einzelwerte wurden zwischen 18000 und 29000 AE, ein maximaler Wert bei 38000 AE gemessen. Zwischen den Maxima findet sich eine breite Streuung von Werten, die entweder durch Synthese oder durch aneuploide Zellen des Tumors bedingt ist.

Es liegt in diesem Fall also ein sicher aneuploider Tumor vor, dessen DNS-Stammlinie zwischem dem 2C- und dem 4C-Wert liegt.

Fall H.C. (Abb. 1h)

(K)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 4000 ± 500 AE. Im Imprint-histogramm folgt einer ersten Häufung von Werten zwischen 4000 und 5500 AE eine zweite zwischen 6000 und 10000 AE mit einem Tumormaximum bei etwa 8000 AE. Weitere Einzelwerte finden sich bis 18000 AE.

Die Stammlinie dieses Tumors liegt damit zwischen 2C und 5C. Die Wertehäufung im diploiden Bereich könnte Zeichen einer zweiten, diploiden Stammlinie sein.

Fall M.S. (Abb. 1i)

(N)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt im Imprintheistogramm bei 4800 ± 800 AE. Im Imprint zeigt der Tumor eine Häufung der Werte zwischen 4500 und 8500 AE mit einem Gipfel bei etwa 6000 AE als Tumormaximum, sowie einzelne Streuwerte bis 18000 AE. Das gesamte Bild der Tumorkurve mit der breiten Streuung der Werte und nur schwach ausgebildeten Gipfeln könnte einer heterogenen Zellpopulation als Folge atypischer Mitosen entsprechen.

Der diploide Wert der Lymphozyten im Suspensionshistogramm weicht um etwa 23,1 % von dem der Lymphozyten im Imprint ab und liegt bei etwa 3500 ± 500 AE. Die Ursache der Abweichung liegt wahrscheinlich darin, daß die Präparate nicht in der gleichen Serie gefärbt wurden, wie oben schon beschrieben wurde.

Die Worthäufung der Tumorzellen im Suspensionshistogramm liegt zwischen 3000 und 5000 AE mit einzelnen höheren Werten zwischen 6000 und 12000 AE. Die Stammlinie des Tumors liegt hier näher beim diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich, zeigt aber weitere Einzelwerte, die dem aneuploiden Bild des Imprintheistogramms entsprechen.

Fall P.H. (Abb. 1j)

(I2)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 3500 ± 800 AE. Das Profil des Suspensionshistogramms zeigt eine Häufung von Werten der Tumorzellen zwischen 5000 und 8000 AE mit einem Maximum bei 6200 AE. Weitere Streuwerte wurden bis 8000 AE gemessen.

Die Stammlinie dieses Tumors liegt sicher im aneuploiden Bereich zwischen 2,5 C und 4C. Die Streuwerte gehören der gleichen Zellpopulation an und setzen sich vermutlich aus aneuploiden Zellen des Tumors zusammen.

Fall H.H. (Abb. 1k)

(U)

Der diploide Wert der Lymphozyten liegt im Imprint bei $3600 \pm$

500 AE. Nach einer kleinen Wertehäufung im diploiden Bereich findet sich der größte Anteil der Tumorzellen bei Werten zwischen 5000 und 10000 AE, mit einem Maximum bei 7000 AE. Weitere Einzelwerte wurden zwischen 10000 und 14000 AE gemessen. Die DNS-Stammlinie liegt im sicher aneuploiden Bereich zwischen 3C und 6C. Im Suspensionshistogramm liegt der diploide Wert der Lymphozyten um etwa 24 % niedriger als im Imprint, also bei 2700 ± 500 AE, was wieder färbetechnisch bedingt sein (kann) dürfte. Der Hauptanteil der Tumorwerte liegt zwischen 4000 und 6500 AE und charakterisiert den Tumor damit als sicher aneuploid mit einer DNS-Stammlinie zwischen 2,5C und 5C. Die Streuwerte zwischen 7000 und 13000 AE sind in beiden Präparaten vorhanden.

3.2.1.2. DIPLOIDE, BZW: PSEUDODIPLOIDE TUMOREN

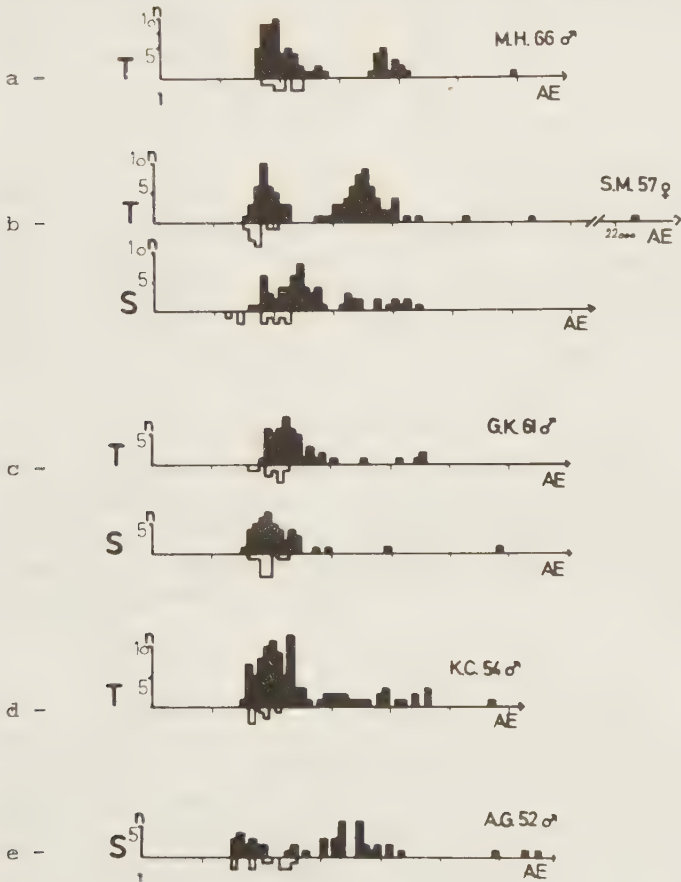


Abb. 2

Zu der Gruppe der diploiden, bzw. pseudodiploiden Tumoren wurden alle Tumoren gerechnet, deren DNS-Gehalt um weniger als 20 % von dem normalen 2C-Wert der Lymphozyten abweicht (s. Tab. 3).

Dabei ist in den Fällen mit nur zwei DNS-Klassen, 2C und 4C, dann ein sicherer Hinweis auf Malignität gegeben, wenn das Verhältnis der 4C-Gruppe um 8 % über dem der 2C-Gruppe liegt. In den entsprechenden gutartigen Populationen beträgt der 4C-Anteil nur $2.97 \pm 2,5 \%$ (PFITZER, P.; VYSKA, K.; STECHER, G.; 1976).

Fall M.H. (Abb. 2a)

(EII)

Der diploide Wert der Lymphozyten liegt bei 4000 ± 500 AE. Das Imprinthistogramm zeigt eine große Ansammlung von Werten der Tumorzellen zwischen 3000 und 6000 AE mit einem Maximum bei 3900 AE. Ohne Zwischenwerte findet sich eine zweite kleinere Häufung von Zellen zwischen 7000 und 9000 AE und ein maximaler Einzelwert bei 12000 AE.

Die Werte der beiden Zellgruppen stehen im Verhältnis 1:2, d.h. es wurden wahrscheinlich Zellen einer Zellpopulation in der G1- und G2-Phase gemessen. Es läge dann ein Tumor mit einer DNS-Stammlinie im diploiden Bereich vor. Die Annahme, daß die Zellen zwei verschiedenen Populationen angehören könnten, von denen die eine diploid, die zweite tetraploid wäre, ist demgegenüber unwahrscheinlicher.

Fall S.M. (Abb. 2b)

(GII)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 3500 ± 300 AE. Das Histogramm des Tumorimprints hat zwei Häufungen der Werte, die erste zwischen 3000 und 4500 AE, die zweite zwischen 5500 und 8000 AE. Es finden sich nur ganz vereinzelt Streuwerte bis 23000 AE. Die beiden Gipfel der Zellgruppen stehen im Verhältnis 1:2 zueinander, d.h. das Profil des Tumors entspricht vermutlich der G1- und G2-Phase eines diploiden Tumors.

Im Suspensionshistogramm findet sich eine breitere Streuung mit Häufung der Werte zwischen 3000 und 6000 AE. Einzelne Werte reichen bis 9000 AE. In diesem Histogramm ist neben dem deutlich diploiden,

bzw. pseudodiploiden Anteil die Höhe und Breite des 4C- bis 8C-Anteils, sowie die Differenz zwischen Imprint- und Suspensionspräparat auffallend.

Fall G.K. (Abb. 2c)

(W)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 4000 ± 500 AE. Der größte Anteil der Werte der Tumorzellen liegt zwischen 3500 und 6000 AE mit einigen Streuwerten bis 10000 AE. Das gleiche Bild bietet das Histogramm der Suspension.

Die DNS-Stammlinie des Tumors liegt damit im diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich.

Fall K.C. (Abb. 2d)

(X)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 3700 ± 300 AE.

Das Profil des Imprints zeigt eine Häufung von Werten zwischen 3000 und 5500 AE mit einem breiten Gipfel um 4000 AE und einem schmalen bei 4700 AE. Mehrere Einzelwerte liegen zwischen 6000 und 12000 AE.

Die DNS-Stammlinie des Tumors liegt im diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich. Die Streuwerte sind entweder als Synthesewerte dieses Tumors aufzufassen, eventuell entsprechen sie aber auch aneuploiden Zellen mit eigenem Chromosomenmuster.

Fall A.G. (Abb. 2e)

(O)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 4000 ± 500 AE.

Das Suspensionshistogramm zeigt ein erstes Maximum zwischen 3000 und 4000 AE, Zwischenwerte um 5000 AE und ein zweites Maximum zwischen 6500 und 7500 AE. Höhere Werte wurden bis 14000 AE gemessen.

Diese Verteilung der Werte im Verhältnis 1:2:4 legt die Interpretation nahe, daß ein Tumor mit einem diploiden Wert der Stamm-

linie vorliegt, mit Zellen in der G1- und G2-Phase, sowie einzelnen oktoploiden Kernen.

3.2.1.3. TUMOREN MIT DEUTLICH AUSGEPRÄGTEM HINWEIS AUF ZWEI
STAMMLINIEN

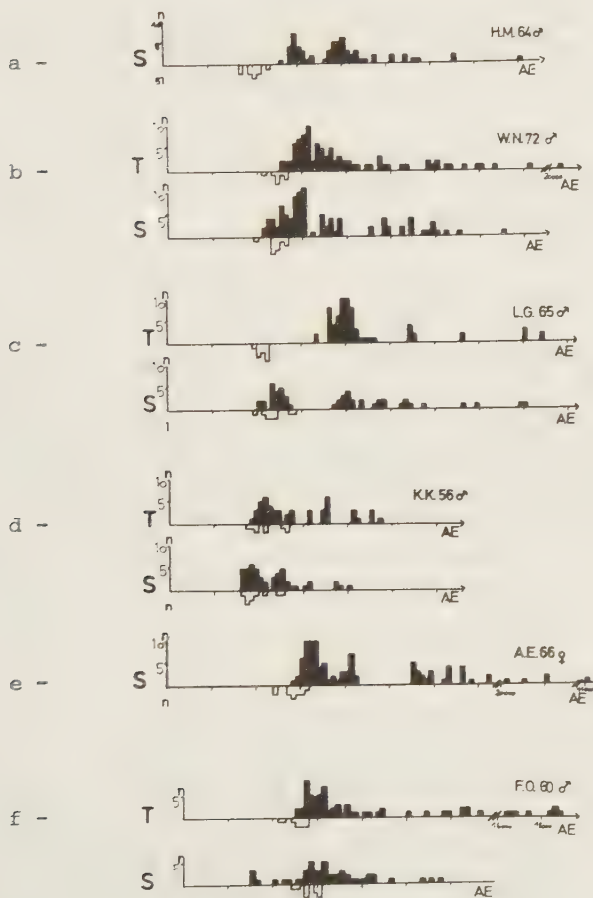


Abb. 3

Fall H.M. (Abb. 3a)

(FII)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 4000 ± 400 AE.

Im Profil des Suspensionshistogramms zeichnet sich ein erstes Maximum zwischen 5000 und 7000 AE ab, ein zweites etwas breiteres zwischen 7000 und 9000 AE. Vereinzelte Streuwerte wurden bis 16000 AE gemessen.

Nach dem Bild des Histogramms kann man bei diesem Tumor auf zwei verschiedene DNS-Stammlinien schließen, beide im sicher aneuploiden Bereich zwischen 2,5C und 4C.

Fall W.N. (Abb. 3b)

(KII)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 4900 ± 400 AE.

Das Imprinthistogramm zeigt eine breite Häufung von Werten zwischen 5000 und 9000 AE, mit einem ersten Maximum um 6000 AE, einem zweiten um 7000 AE. Weitere Streuwerte wurden bis 21000 AE gemessen.

Im Suspensionshistogramm bietet sich ein vergleichbares Bild.

Ein Einschnitt im Kurvenverlauf bei 6500 AE, der sich sowohl im Imprint-, als auch im Suspensionshistogramm nachweisen läßt, läßt den Schluß zu auf zwei verschiedene Stammlinien, beide im aneuploiden Bereich zwischen 2,5C und 3C.

Fall L.G. (Abb. 3c)

(DII)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 4300 ± 300 AE.

Im Imprint findet sich eine Häufung von Werten zwischen 7000 und 9500 AE mit einem Gipfel um 8000 AE. Vereinzelte kleine Zellgruppen liegen bei den Werten 11000, 13000 und 16000 AE. Im Suspensionshistogramm findet sich zunächst eine größere Gruppe von Werten im diploiden Bereich zwischen 4000 und 6000 AE, dann eine zweit kleinere Gruppe zwischen 7000 und 10000 AE, die dem Tumormaximum des Imprints entspricht.

Da eine Fehldeutung von Endothelkernen in dieser Menge nicht möglich erscheint, stellt die Häufung im diploiden Bereich einen Hin-

weis auf eine zweite, im diploiden Bereich liegende Stammlinie des Tumors dar. Die Annahme, daß der Tumor überhaupt nur eine diploide Stammlinie mit Werten der G1- und G2-Phase hat, widerspräche den Erfahrungen und würde bedeuten, daß der eindeutig tetraploide Wert des Tumors im Profil des Imprints einer reinen G2-Population entspricht.

Fall K.K. (Abb. 3d)

(AII)

Der diploide Wert der Lymphozyten liegt bei 4000 ± 500 AE. Im Imprinthistogramm findet sich die erste Häufung der Werte der Tumorkerne zwischen 3500 und 5000 AE. Mehrere Werte streuen bis 10000 AE, wobei sich ein schmaler Gipfel bei 7000 AE abhebt. Das Histogramm der Suspension zeigt ein erstes Maximum zwischen 3000 und 4000 AE, das ebenfalls einer DNS-Stammlinie im 2C-Bereich entspricht. Ein zweites Maximum zwischen 4500 und 6000 AE liegt wieder deutlich unter dem zu erwartenden G2-Wert von etwa 7000 AE und ist ein Hinweis auf eine zweite Stammlinie im aneuploiden Bereich.

Fall A.E. (Abb. 3e)

(HII)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 5600 ± 400 AE.

Das erste Tumormaximum findet sich als breiter Gipfel zwischen 5500 und 7500 Ae, gefolgt von einem kleinen schmalen Gipfel bei 8300 AE. Zwischen 11000 und 15000 AE, sowie 20000 und 26000 AE wurden weitere Werte gemessen. Ein maximaler Wert liegt bei 41000 AE.

Die DNS-Stammlinie des Tumors liegt im diploiden, bzw. pseudo-diploiden Bereich. Ob die Zellen des zweiten Gipfels eine zweite aneuploide Stammlinie des Tumors darstellen, kann aufgrund der zu geringen Zahl der Meßwerte nicht mit absoluter Sicherheit geklärt werden, erscheint jedoch wahrscheinlich (PFITZER et al., 1978).

Fall F.O. (Abb. 3f)

(J)

Der 2C-Wert der Lymphozyten liegt bei 5300 ± 500 AE.

Die Häufung der Werte im Imprinthistogramm liegt zwischen 5000 und 7000 AE, mit einem ersten Maximum bei 5500 AE und einem zweiten bei 6500 AE, Streuwerte wurden bis 22000 AE gemessen. Im Suspensionshistogramm sind diese beiden benachbarten Gipfel ebenfalls ausgebildet. Streuwerte wurden hier jedoch nur bis 12000 AE gefunden, und, abweichend vom Imprinthistogramm, wurden hier einige Zellen im hypodiploiden Bereich gemessen. Das Auftreten von zwei dicht benachbarten Maxima in beiden Präparationsverfahren spricht für das Vorliegen zweier verschiedener Stammlinien, die sich jedoch beide im diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich befinden.

3.2.2. EINTEILUNG DER EINZELNEN HYPERNEPHROIDEN KARZINOME
NACH DNS-STAMMLINIEN:

Von 22 untersuchten Tumoren waren

- sicher aneuploid	11 Fälle (50,00 %)
- diploid, bzw. pseudodiploid	5 Fälle (22,70 %)
- mit Hinweis auf zwei Stammlinien	6 Fälle (27,30 %)

(s. Tab. 3)

Übersichtstabelle:

Operat. Zugang	sicher aneuploid	diploid/pseudodiploid	2 Stammlinien
retroperitoneal	F.B.	M.H.	H.M.
	M.S.	K.C.	W.N.
	P.H.	S.M.	A.E.
	H.C.	A.G.	F.O.
	T.M.		
	G.S.		
	P.K.		
	P.B.		
	K.G.		
transperitoneal	H.H.	G.K.	L.G.
	H.U.		K.K.

Tab. 3: Einteilung der einzelnen hypernephroiden Karzinome nach
DNS-Stammlinien

3.2.3. VERGLEICH DER PROFILE VON IMPRINT- UND SUSPENSIONS- HISTOGRAMMEN DERSELBEN TUMOREN

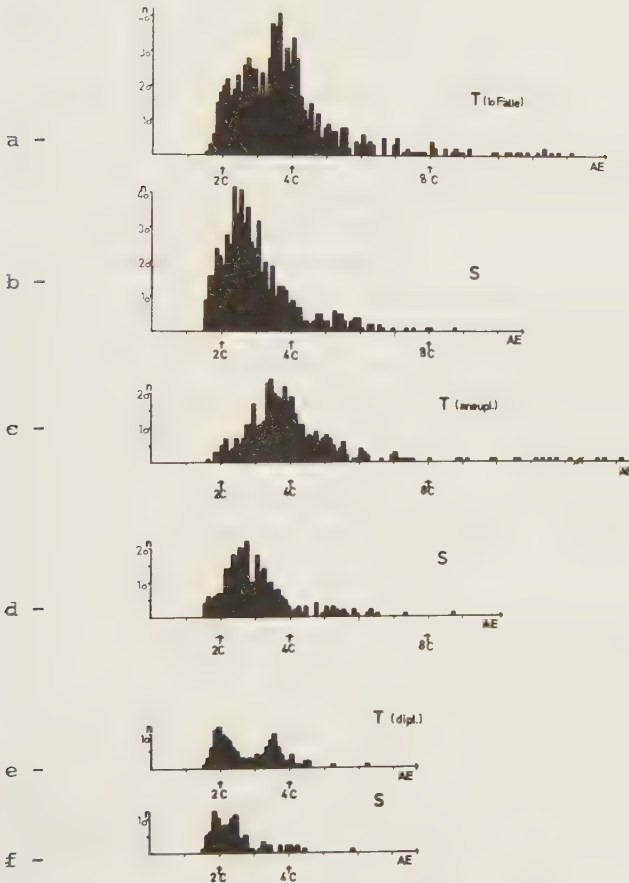


Abb. 4

Die Profile von Imprint und Suspension desselben Tumors zeigen gelegentlich Unterschiede in Bezug auf Höhe und Lage der Gipfel und Anteil der Zwischenwerte (STECHER u. PFITZER, 1976). In Abb. 4a-b sind die Histogramme aller Tumoren, von denen sowohl

Imprint als auch Suspension vorhanden waren, in je einem Histogramm zusammengefaßt.

Im Gesamthistogramm der Imprintpräparate läßt sich eine deutliche Trennung zwischen einem kleineren diploiden, bzw. pseudodiploiden Maximum und einem hohen Gipfel im 4C-Bereich, der aus G2-Zellen der diploiden, und vor allem aus G1-Zellen der aneuploiden Tumoren gebildet wird, erkennen. Einzelwerte wurden bis 25000 AE gemessen.

Im Gesamthistogramm der Suspensionen fällt demgegenüber auf, daß der Gipfel im diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich höher ausfällt, die Werte im 4C-Bereich dagegen nur noch in sehr viel geringerer Zahl vorhanden sind. Außerdem finden sich in diesem Histogramm einzelne Streuwerte nur bis maximal 17500 AE.

Der Verlust der Kerne mit höherem DNS-Gehalt legt den Schluß nahe, daß ein Teil der Zellen mechanischer Einwirkung gegenüber widerstandsfähiger ist. Ob die Synthesekerne empfindlicher sind, oder ganz allgemein monströse Kerne eher mechanisch zerstört werden, bleibt zu klären.

Um dies genauer zu untersuchen, wurden die Tumoren mit diploider, bzw. pseudodiploider Stammlinie von der Gruppe der aneuploiden Tumoren getrennt und in einem gesonderten Histogramm zusammengefaßt.

Abb. 4c-d zeigt das Histogramm der aneuploiden Tumoren, in denen sich der gleiche Unterschied abzeichnet zwischen Imprint und Suspension wie im Gesamthistogramm aller Tumoren. In den Histogrammen der diploiden, bzw. pseudodiploiden Tumoren (Abb. 4e-f) tritt noch deutlicher die Tendenz in Erscheinung, daß der im Imprintprofil klar erkennbare 4C- oder G2-Gipfel der Tumorzellen im Suspensionshistogramm nur noch durch einige Werte angedeutet wird. Es muß also damit gerechnet werden, daß bei mechanischer Behandlung eines Tumors ein Teil der im Tumor tatsächlich vorhandenen höheren DNS-Werte verlorengeht. Ob diese Ergebnisse möglicherweise Konsequenzen z.B. für die Impulscytophotometrie, die mit Zellsuspensionen arbeitet, hat, bedarf weiterer Untersuchungen.

3.2.4. IDENTIFIZIERUNG MORPHOLOGISCH VERDÄCHTIGER ZELLEN
IM PERIPHEREN BLUT ANHAND IHRES ABWEICHENDEN DNS-
GEHALTES

3.2.4.1. BLUTPROBEN DER FÄLLE MIT ANEUPLOIDEM TUMOR

Eine sichere Identifizierung von Tumorzellen bei fraglicher Morphologie anhand ihres vom normalen diploiden DNS-Wertes der Lymphozyten abweichenden DNS-Gehaltes ist nur bei sicher aneuploiden Tumoren möglich. Selbstverständlich ist dies auch bei allen Fällen mit einer zweiten aneuploiden Stammlinie möglich, allerdings treten hier besondere Probleme auf.

Außer im Fall F.B. wurden in allen anderen Fällen entweder keine oder nur vereinzelte Zellen als Tumorzellen identifiziert. Eine Reihe dieser Fälle zeigte zwar morphologisch verdächtige Zellen, die jedoch keine dem Primärtumor entsprechende DNS-Mengen enthielten.

In den Blutproben wurden reichlich aneuploide DNS-Werte nur im Fall F.B. gefunden (Abb. 5).

Proben während der Operation bis zur abschließenden Wundversorgung (Abb. 5, 4p-7p), ergibt die breite Streuung der Meßwerte ein ähnliches Bild wie im Suspensionshistogramm (Abb. 5, S), mit Werten bis 12000 AE und weist damit auf eine kontinuierliche massive Tumorzellaussaat ins periphere Blut hin. Der weitere Krankheitsverlauf dieses Patienten wurde noch bis ein Jahr nach der Operation verfolgt. Bis zu diesem Zeitpunkt stellte sich zu den bereits präoperativ verifizierten Lungenmetastasen keine klinische Befundverschlechterung ein.

In den weiteren Fällen dieser Gruppe enthielten nur einige Proben vereinzelte Zellen mit abweichendem DNS-Wert, wie der Fall K.G. (Abb. 6).

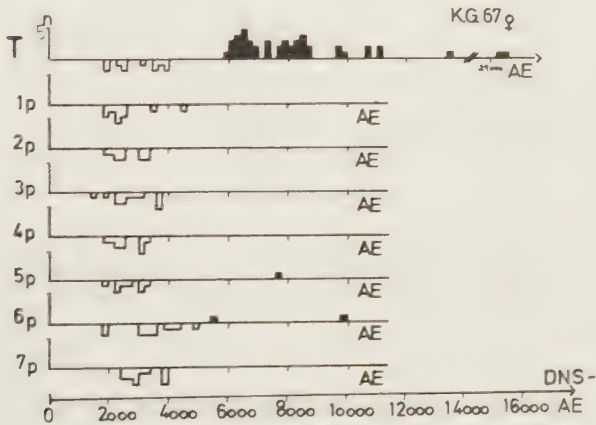


Abb. 6

Die präoperativ entnommenen Blutproben zeigen keine morphologische verdächtige Zelle, während die Probe, die während des Durchtrennens der Faszia abgenommen wurde, eine Zelle mit einem DNS-Gehalt von etwa 8000 AE enthält (Abb. 6, 5p). Ebenso verhält

es sich in der Probe, die beim digitalen Vorgehen zum Nierenstiel entnommen wurde (Abb. 6, 6p). Hier fanden sich zwei Zellen, die mit ihren Absorptionswerten bei 6000 und 10000 AE und damit im sicher aneuploiden Bereich lagen. Diese Kerne können einwandfrei dem Tumor zugeordnet werden.

Demgegenüber wurde in dem Fall H.C. (Abb. 7)

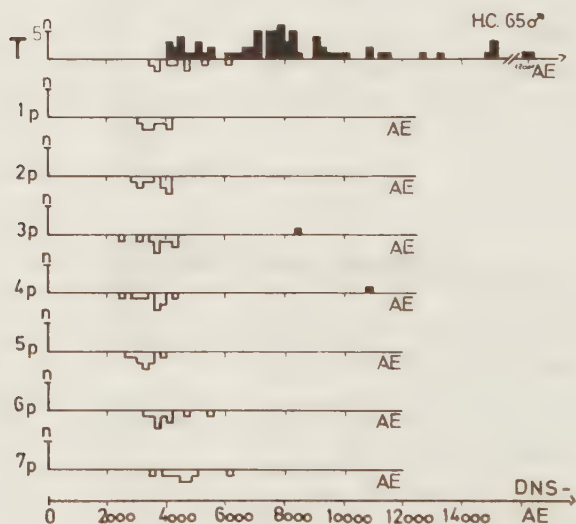


Abb. 7

zwar in Ruhe und während des Lagerns keine verdächtige Zelle gefunden, während des Waschens (Abb. 7, 3p) jedoch fand sich eine Zelle mit einem DNS-Wert bei 8500 AE, also im eindeutig aneuploiden Bereich. Ebenso wurde in der Probe, die in der Zeit des Hautschnittes entnommen wurde (Abb. 7, 4p) eine einzige Zelle mit einem Wert um 11000 AE gefunden. Sie entspricht damit ebenfalls dem aneuploiden Tumor. Die beiden letzten Proben, die während des digitalen Vorgehens zum Nierenstiel und nach beendeter Nephrektomie entnommen wurden, sind negativ.

Im Fall P.K. (Abb. 8) wurden in den drei Proben, die präoperativ

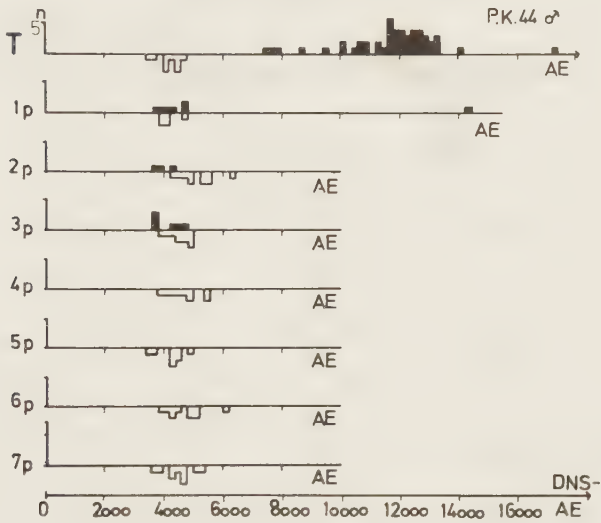


Abb. 8

gewonnen wurden (Abb. 8, 1p-3p), also in Ruhe vor jeder Manipulation, beim Lagern und beim Waschen, als maligne verdächtige Zellen gefunden, die jedoch wegen ihres im normalen 2C-Bereich liegenden DNS-Gehaltes eindeutig als Normalzellen identifiziert werden konnten. In der ersten Blutprobe unter Ruhebedingungen (Abb. 8, 1p) fand sich jedoch auch eine Zelle mit einem DNS-Gehalt um 14000 AE, die damit einwandfrei von dem aneuploiden Tumor stammt. Alle Proben, die während der Operation und nach der Wundversorgung entnommen wurden, wiesen weder cytophotometrisch, noch morphologisch verdächtige Befunde auf.

Im Fall H.H. (Abb. 9) können der aneuploiden Stammlinie des

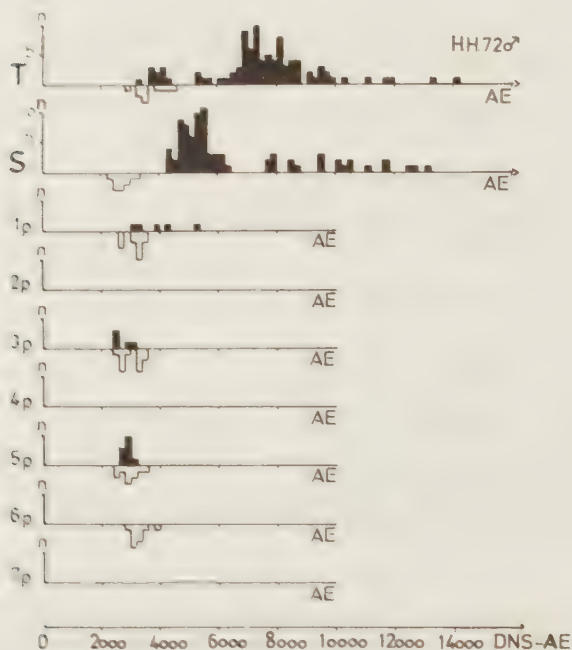


Abb. 9

Tumors einzelne Werte bis 5500 AE zugeordnet werden, und zwar nur in der unter Ruhebedingungen entnommenen Blutprobe (Abb. 9, 1p). Die während des Waschens präoperativ und während des Durchtrennens der Faszie intraoperativ gewonnenen Blutproben zeigen zwar morphologisch verdächtige Zellen, diese entsprechen aber in ihrem DNS-Gehalt nicht sicher dem Tumor und sind daher als nicht zum Tumor gehörig anzusehen.

Der Fall M.S. weist in allen peripheren Proben, sowohl prä-, intra-, als auch postoperativ morphologisch verdächtige Zellen auf. Jedoch ergab die Messung mit dem Scanningmikroskopphotometer,

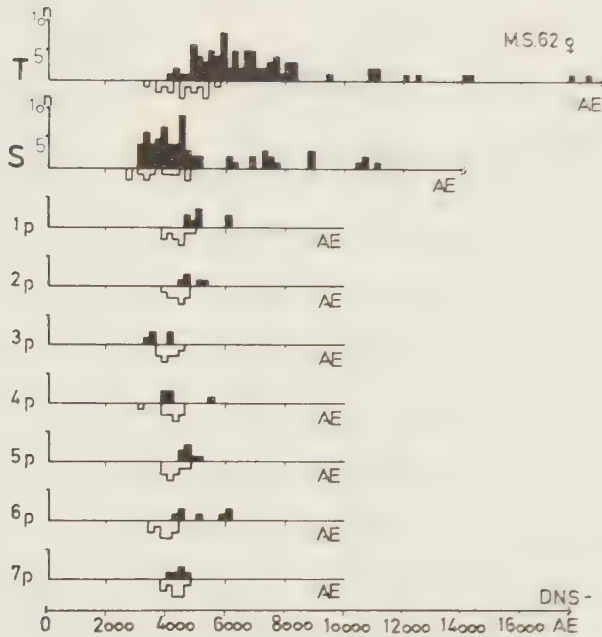


Abb. 10

daß nur in den Proben, die unter Ruhebedingungen (Abb. 10, 1p), während des Hautschnittes (Abb. 10, 4p) und während des Vorgehens zum Nierenstiel (Abb. 10, 6 p) gewonnen wurden, vereinzelt Werte bis 6000 AE und damit im aneuploiden Bereich vorkommen. Die anderen Zellen liegen mit ihrem DNS-Gehalt im diploiden Bereich und können mittels der Scanning-Methode nicht näher identifiziert werden.

Im Fall W.N. (Abb. 11), dessen Tumor zwei Stammlinien im aneuploiden Bereich aufwies, ist nur die während des Hautschnittes entnommene Probe negativ, während morphologisch alle anderen Proben positiv sind. Die verdächtigen Zellen, die in dem in Ruhe gewonnenen Blut gefunden wurden, sind aufgrund ihres im diploiden Bereich liegenden DNS-Gehaltes nicht eindeutig zu identifizieren.

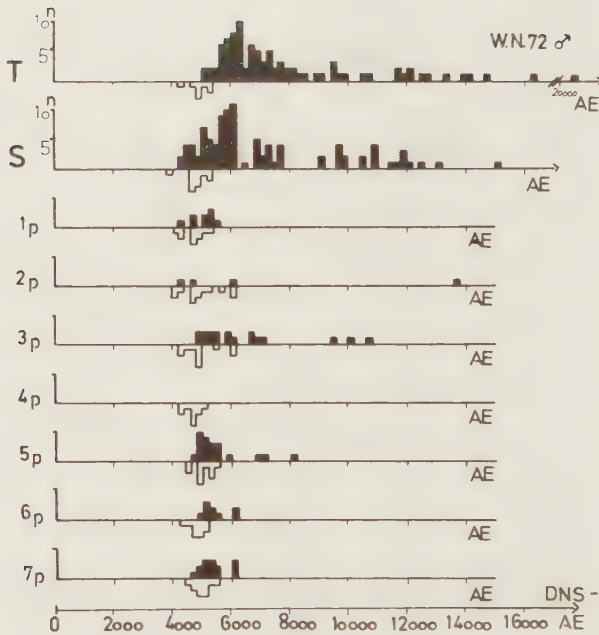


Abb. 11

Während des Lagerns (Abb. 11, 2p) fand sich neben einigen Zellen im diploiden Bereich ein Meßwert bei 14000 AE, der sicher einer Tumorzelle entspricht. In der Probe während des Waschens vor der Operation (Abb. 11, 3p) fanden sich neben einigen nicht klar zu differenzierenden Zellen drei Meßwerte zwischen 9000 und 11000 AE, die mit Sicherheit dem aneuploiden Tumor angehören. Während des Durchtrennens der Faszie (Abb. 11, 5p) fanden sich wieder neben Zellen mit diploidem Wert wenige Zellen mit einem DNS-Gehalt bis 8200 AE, die dem Tumor zugeordnet wurden. Die auch in den beiden letzten Proben auftretenden verdächtigen Zellen können wegen ihres kaum vom diploiden 2C-Wert der Lymphozyten abweichenden DNS-Gehaltes nicht als Tumorzellen identifiziert werden.

Im Fall A.E. (Abb. 12) wurden sowohl in Ruhe, in der Phase der

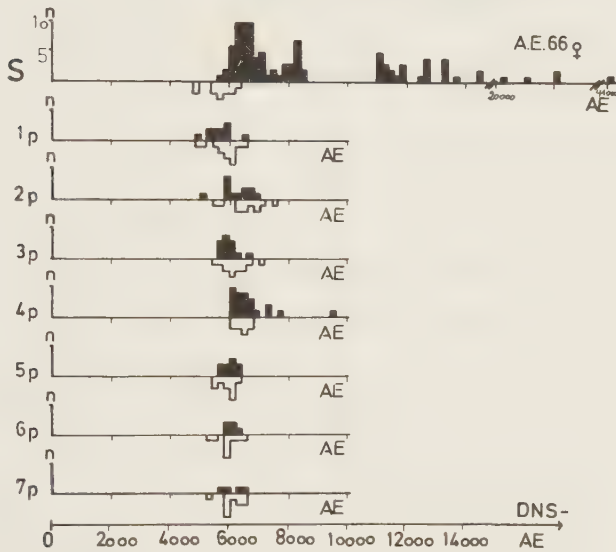


Abb. 12

Operationsvorbereitungen, als auch während der Operation und nach der Wundversorgung morphologisch verdächtige Zellen gefunden. Diese Zellen können mittels der Scanning-Methode nicht von normalen diploiden Zellen unterschieden werden. Sie sind entweder Tumorzellen, die der diploiden Stammlinie des Tumors angehören, oder Zellen anderer Herkunft. Lediglich in der Probe, die während des Hautschnittes entnommen wurde (Abb. 12, 4p), fanden sich einige erhöhte Werte bis 10000 AE, die verschleppten Tumorzellen entsprechen.

Ein weiterer Fall dieser Gruppe, in der in den peripher gewonnenen Proben positive Befunde vorlagen, ist auch der Fall K.K. (Abb. 13). in Ruhe, während der gesamten Operation und nach Ab-

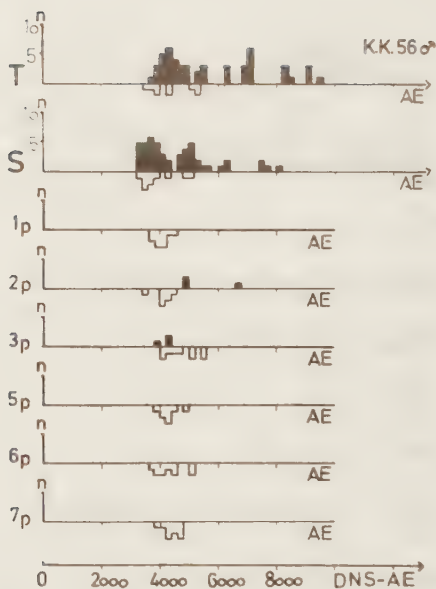


Abb. 13

sprechen, was jedoch mit den Mitteln der Cytophotometrie nicht sicher geklärt werden kann.

Demgegenüber gibt es eine Gruppe mit zwei Fällen, bei denen in den Proben, die zentral aus der Vena cava entnommen wurden, höhere DNS-Werte gemessen werden konnten, während die dazugehörigen peripher gewonnenen Proben keine als Tumorkern zu wertende Messung ergaben. Dazu gehört einmal der Fall L.G. (Abb. 14), dessen Tumor zwei Stammlinien enthält. In zwei Proben vor der Operation, die zentral entnommen wurden, nämlich bereits in Ruhe (Abb. 14, 12) und während der Hautdesinfektion (Abb. 14, 3Z), wurden mehrere

schluß der Nephrektomie wurden keinerlei verdächtige Zellen gefunden. Lediglich während des Lagers (Abb. 13, 2p) fanden sich morphologisch verdächtige Zellen mit einem Absorptionswert um 5000 und um 7000 AE. Diese Zellen können dem aneuploiden Teil des Tumors zugeordnet werden. In dem während des Waschvorgangs entnommenen Blut fanden sich ebenfalls verdächtige Zellen, die mit ihrem DNS-Gehalt im diploiden Bereich liegen. Sie könnten allerdings dem diploiden Anteil des Tumors ent-

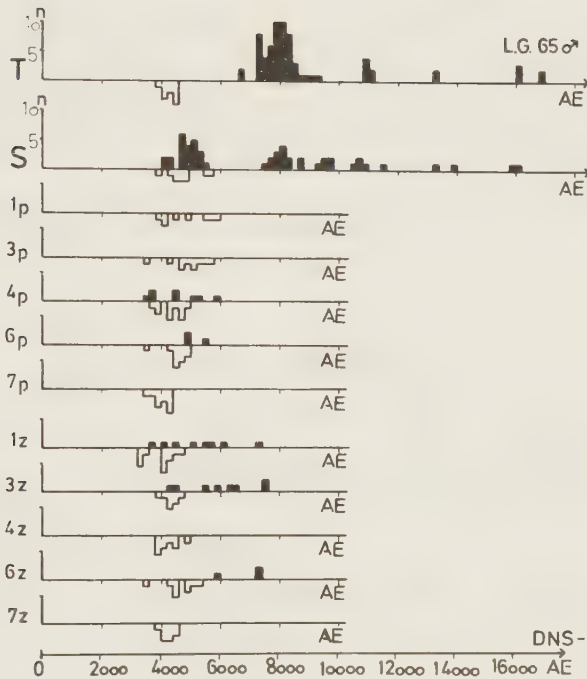


Abb. 14

morphologisch verdächtige Zellen aufgrund ihres abweichenden DNS-Gehaltes, der in beiden Proben bei Werten bis zu 8000 AE liegt, als Tumorzellen identifiziert. Die während des Hautschnittes zentral entnommene Probe weist keine morphologisch verdächtige Zelle auf.

Demgegenüber konnten in der Zeit während des digitalen Vorgehens zum Nierenstiel im zentralen Blut (Abb. 14, 6Z) wieder Zellen gefunden werden, deren DNS-Gehalt bis 8000 AE, also bis in den tetraploiden Bereich reicht. Sie gehören demnach dem aneuploiden Anteil des Tumors an. In den peripher gewonnenen Proben waren vor der Operation keine verdächtigen Zellen zu

finden. Zwar traten während des Hautschnittes und des digitalen Vorgehens zum Nierenstiel mehrere verdächtige Zellen auf, die jedoch infolge ihres normalen DNS-Gehaltes als Normalzellen identifiziert wurden. Eventuell könnten sie dem diploiden Anteil des Tumors angehören. Dies kann mit der Cytophotometrie nicht geklärt werden.

Der zweite Fall dieser Gruppe ist der Fall H.M. (Abb. 15).

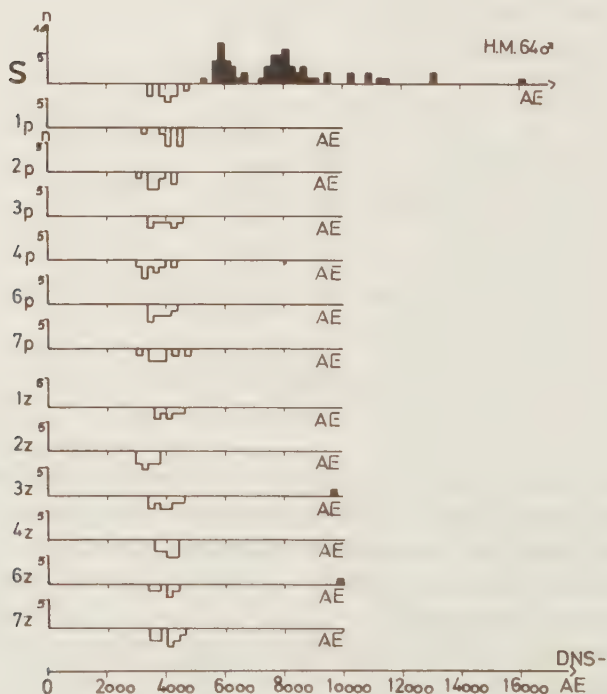
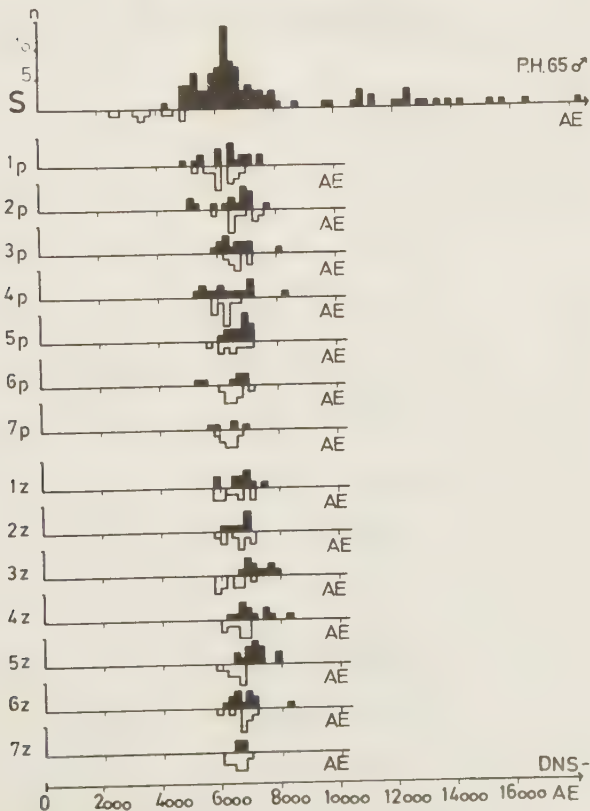


Abb. 15

Hier sind die zentralen Proben während der präoperativen Phase frei von verdächtigen Zellen, nur während des Waschens (Abb. 15, 3z) wurde ein Kern mit einem DNS-Gehalt um 10000 AE gemessen und entspricht damit eindeutig einer Tumorzelle. Während des manuellen Vorgehens zum Gefäßstiel der Niere (Abb. 15, 6z) wurde

wiederum eine Zelle gefunden, deren DNS-Gehalt von 10000 AE einer sicher aneuploiden Zelle und damit einer verschleppten Tumorzelle entspricht. Nach beendeter Nephrektomie wurde keine verdächtige Zelle mehr gefunden. In den zur gleichen Zeit peripher entnommenen Blutproben konnten weder in der präoperativen, noch intraoperativen Phase verdächtige Befunde erhoben werden.

Zu der Gruppe mit zwar morphologisch positiven, cytophotometrisch dagegen negativen Befunden, zählen vier Fälle. Im Fall P.H. (Abb. 16)



enthielten auch die zentral entnommenen Blutproben zu jedem Zeitpunkt sowohl prä-, intra-, als auch postoperativ mehrere verdächtige Zellen, deren DNS-Werte aber nicht dem aneuploiden Tumor entsprechend vom normalen 2C-Wert der Lymphozyten abweichen, sodaß diese Proben als negativ zu betrachten sind. Ebenso verhält es sich in allen peripher entnommenen Proben, in denen alle verdächtigen Zellen einen nahezu diploiden DNS-Gehalt aufweisen und somit als normale Zellen bezeichnet werden können.

Der gleiche Befund läßt sich im Fall G.S. (Abb. 17) erheben.



Auch hier traten sowohl zentral als auch peripher in allen Phasen der Operation mehrere verdächtige Zellen auf, die alle mit der Scanning-Methode aufgrund ihres im 2C-Bereich liegenden DNS-Gehaltes als normale Zellen identifiziert wurden.

Zwei weitere Fälle dieser Gruppe mit nach morphologischen Gesichtspunkten positivem Befund, sind die Fälle T.M. (Abb. 18) und P.B. (Abb. 19). Im ersten Fall wurden präoperativ während des Lagerns verdächtige Zellen gefunden, die aber nach ihrem

DNS-Gehalt eindeutig nicht dem aneuploiden Tumor entsprechen. Auch in der peripher zur Zeit des Hautschnittes entnommenen Blutprobe fand sich eine verdächtige Zelle, die aber mit der Scanning-Methode als normal identifiziert werden konnte.

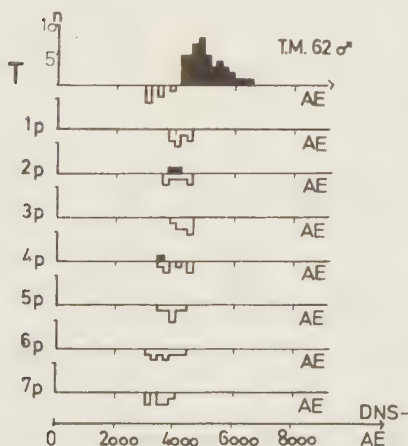


Abb. 18

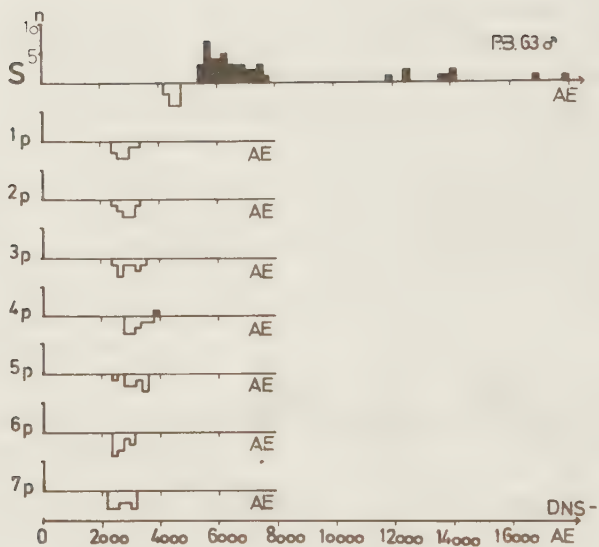
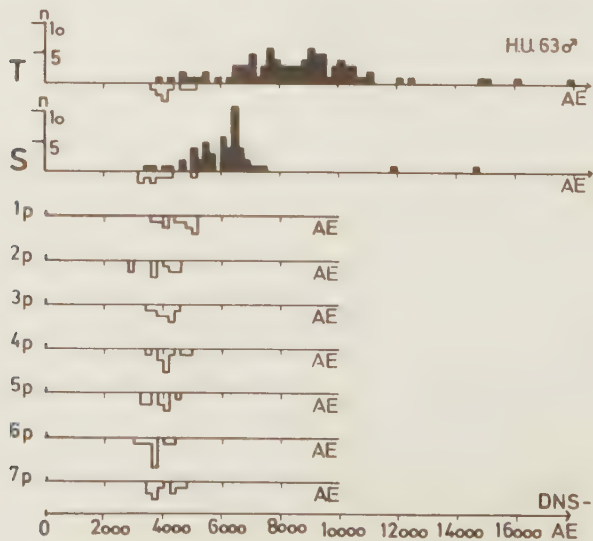


Abb. 19

Im zweiten Fall verhält es sich ebenso.

Fall H.U. (Abb. 20) war cytophotometrisch und morphologisch



negativ.

3.2.4.2. BLUTPROBEN DER FÄLLE MIT DIPLOIDEM, BZW. PSEUDO-DIPLOIDEM TUMOR

Problemfälle stellen diejenigen dar, deren Tumor eine Stammlinie im diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich besitzen. Eine Identifizierung von Tumorzellen im Blut ist bei diesen Tumoren mit Hilfe der Scanning-Cytophotometrie nicht möglich. Hier wurden die Proben nur nach morphologischen Kriterien untersucht. Stichprobenmessungen der Kerne, die verdächtig erschienen, ergaben, wie zu erwarten, DNS-Werte im diploiden Bereich und können zur näheren Identifizierung nicht herangezogen werden.

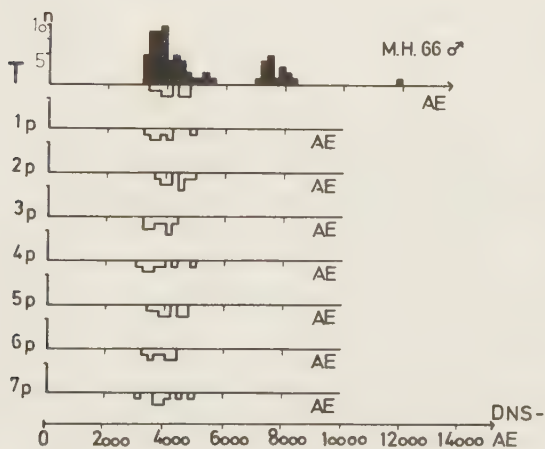


Abb. 21

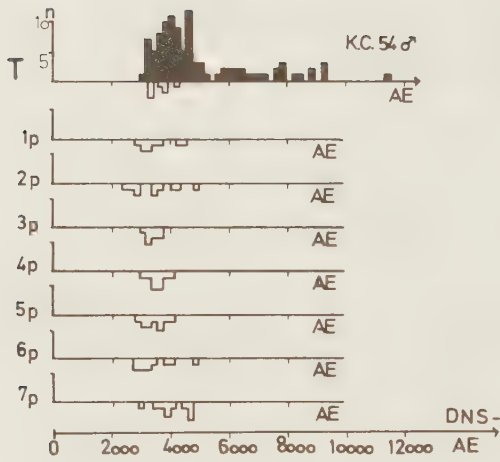


Abb. 22

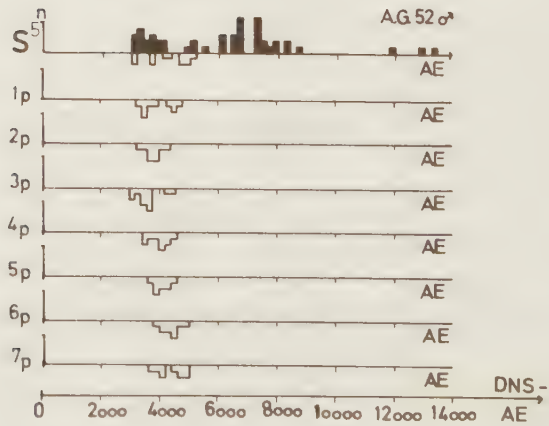


Abb. 23

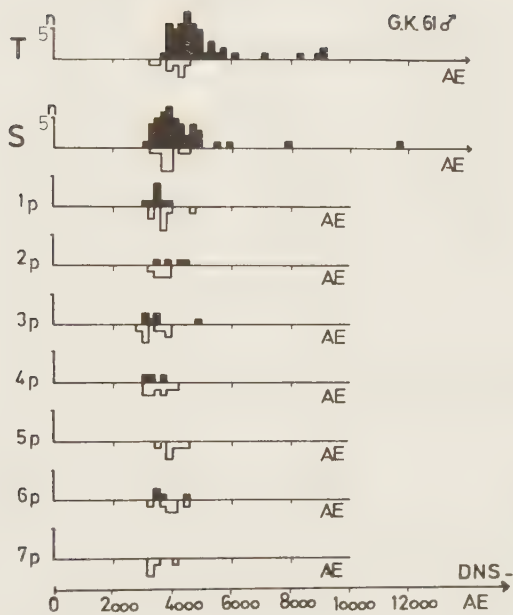


Abb 24

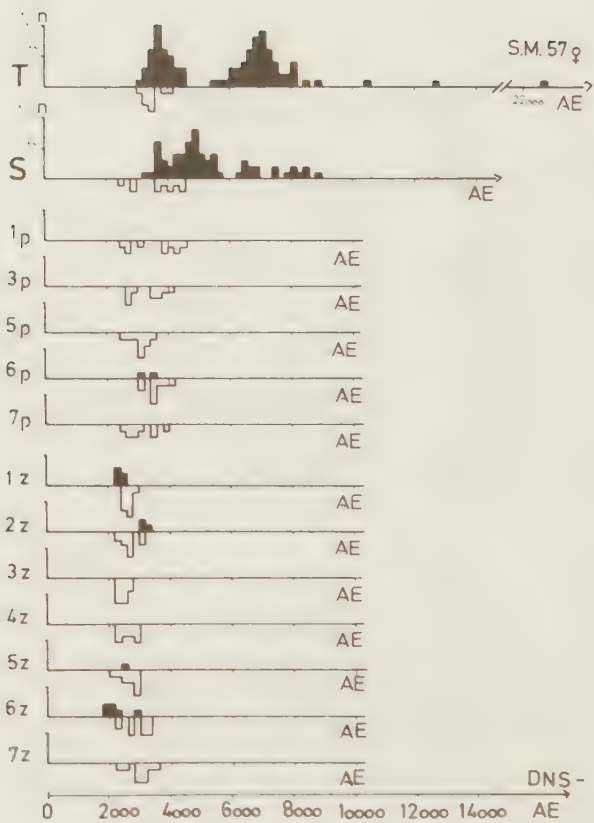


Abb 25

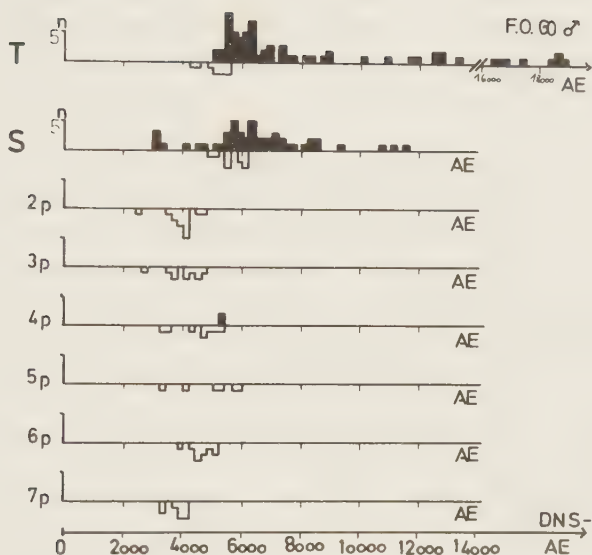


Abb. 26

Die zu diesen diploiden, bzw. pseudodiploiden Tumoren gehörenden Blutproben der M.H. (Abb. 21), K.C. (Abb. 22) und A.G. (Abb. 23) sind in allen Phasen der Operation sowohl morphologisch als auch cytophotometrisch negativ. In den Fällen G.K. (Abb. 24), S.M. (Abb. 25) und F.O. (Abb. 26) fanden sich zwar mehrfach morphologisch verdächtige Zellen, die jedoch infolge ihres normalen DNS-Gehaltes nicht genauer überprüft werden können. Eine Aussage über Malignität dieser Zellen kann hier nicht gemacht werden, da eine Differenzierung anhand des DNS-Gehaltes nicht möglich ist.

In Tab. 4 ist das Auftreten im Blut zirkulierender Tumorzellen, die sicher mittels der Scanning-Methode identifiziert wurden, zusammengestellt.

Auftreten zirkulierender Tumorzellen im Blut:

	Proben						
	1	2	3	4	5	6	7
Retroperitoneal	n	n	n	n	n	n	n
F.B.	>100	>100	>100	>100	>100	>100	>100
K.G.	-	-	-	-	1	2	-
H.C.	-	-	1	1	-	-	-
P.K.	1	-	-	-	-	-	-
M.S.	2	-	-	1	-	3	-
W.N.	-	1	3	-	3	-	-
A.E.	-	-	-	4	-	-	-
H.M.	-	-	1	-	-	1	-
P.H.	-	-	-	-	-	-	-
G.S.	-	-	-	-	-	-	-
T.M.	-	-	-	-	-	-	-
P.B.	-	-	-	-	-	-	-
Transperitoneal							
H.H.	1	-	-	-	-	-	-
K.K.	-	1	-	-	-	-	-
H.U.	-	-	-	-	-	-	-
L.G.	4	-	6	-	-	3	-

Tab. 4: n = Anzahl der mittels DNS-Cytophotometrie sicher identifizierten Tumorzellen.

- = kein Tumorzellbefund

4. DISKUSSION

4.1. DIE HÄMATOGENE METASTASIERUNG DES HYPERNEPHROIDEN NIERENKARZINOMS

Das hypernephroide Nierenkarzinom ist der häufigste aller bösartigen Nierentumoren und findet sich in etwa 72 bis 75 % aller Fälle (LUCKE u. SCHLUMBERGER, 1957; RICHES, 1951; WALTHER, 1948). Trotz seiner epithelialen Herkunft zeigt es eine besondere Tendenz zu hämatogener Metastasierung (BRÜHL, 1973; MCDONALD, 1943; RICHES, 1951). MOSTOFI (1967) begründet das damit, daß die enge anatomische Verbindung zwischen dünnwandigen Kapillaren und tubulärem Epithel der normalen Niere auch in der Tumorniere bestehen bleibt. Es findet sich dann zwischen Tumorzellen und Gefäßlumen nur eine dünne Endothelzellschicht, die bei geringen Schädigungen wie z.B. Veränderung der Sauerstoffversorgung, zerstört werden kann, wodurch eine Ausschwemmung von Tumorzellen in den Kreislauf ermöglicht wird.

Nach WALTHER (1948) spielen bei den vier wichtigsten hämatogenen Metastasierungstypen Lunge und Leber die wesentlichste Rolle als Filter für ausgeschwemmte Tumorzellen mit erfolgreicher Bildung von Metastasen. So ist der Ort der häufigsten Metastasen beim hypernephroiden Karzinom die Lunge, die laut Literatur zu 31 bis 60 % betroffen ist (FRIED, 1946; LUCKE u. SCHLUMBERGER, 1957; WALTHER, 1948). Mit diesen Angaben stimmen unsere Ergebnisse überein. Zum Zeitpunkt der Operation hatten 27,3 % der Patienten bereits nachweisbare Metastasen, davon waren 66,6 % Lungenmetastasen.

Für das hypernephroide Nierenkarzinom ist jedoch noch ein weiterer Metastasierungsweg wichtig, nämlich der "vertebrale" Typ, eine Sonderform der hämatogenen Metastasierung (BATSON, 1967; MESSMER, 1966). Hier können infolge einer direkten Verbindung

zwischen Niere und vertebralem Venengeflecht über die Vena azygos Knochenmetastasen unter Umgehung der Lunge entstehen. In der Literatur wird die Häufigkeit von Knochenmetastasen ohne Lungenbefall mit 10 % angegeben (MESSMER, 1966), und auch unter unseren Patienten fand sich ein solcher Patient. Über Einzelheiten der hämatogenen Metastasierung herrscht noch Unklarheit. Sie läßt sich jedoch nach COLE (1961) und WOOD (1973) in drei Phasen unterteilen:

1. die Penetration
2. der intravasale Transport von Tumorzellen bis zu ihrer Arretierung und
3. die Invasion und Proliferation im umgebenden Gewebe.

GRUNDMANN (1979) unterteilt den letzten Schritt in

- a) Adhäsion an der Gefäßwand
- b) infiltrierende Invasion und
- c) Wachstum im Fremdgewebe.

In der Initialphase, der Penetration, kommt es zum Eintritt maligner Zellen in den Kreislauf. Dabei spielt zunächst die Verminderung der Kohäsion im Tumorgewebe eine Rolle, die Voraussetzung für die Ablösung von Tumorzellen aus dem Zellverband ist.

Neben dieser Exfoliation gibt es als weiteren Faktor die Lokomotion oder Eigenbeweglichkeit neoplastischer Zellen. Sie wurde tierexperimentell im Ohrkammerverfahren (WOOD, 1964) und sowohl indirekt durch Licht- und Scanning-Elektronenmikroskopie, wie auch direkt durch in-vivo-Experimente mittels Mikrokinematographie nachgewiesen (STRÄULI, 1979). Außerdem wird eine lytische Aktivität der Tumorzellen als weiterer Faktor vermutet, die die Infiltration von Tumorzellen in die Gefäße erleichtert (DRESDEN, 1972). STRÄULI (1979) vermutet eine lytische Aktivität insbesondere durch Proteasen, die entweder von den Tumorzellen selbst freigesetzt, oder aber in dem Wirtsorganismus durch die Tumorzellen aktiviert werden. STRÄULI postuliert, daß außer den unter-

schiedlich invasiven Eigenschaften verschiedener Zellpopulationen vor allen Dingen eine Interaktion zwischen Lokomotion und lytischer Aktivität notwendig ist.

Nach LIOTTA (1979) haben einige Tumorzellen eine spezifische Adhärenz zum Basalmembran-Kollagen und produzieren ein Enzym, das selektiv Kollagen IV abbaut. Diese Aktivitäten korrelieren mit dem metastatischen Potential der Tumorzellen. Darüber hinaus stellte DEBRUYN (1979) eine spezifische Wirkung der Tumorzellen auf die Endothelzellen tumoreigener Gefäße fest. Die Tumorzellen verursachen dabei die Bildung passagerer Poren im Endothelzellkörper, die sich nach dem Durchtritt von einzelnen bis maximal vier Tumorzellen wieder schließen, ohne daß ein Defekt nachweisbar wäre (DEBRUYN, 1979).

Neben diesem aktiven Prozess der Penetration gibt es den als Intravasation bezeichneten passiven Prozess des Eindringens von Tumorzellen in die Gefäße. Er soll durch Erhöhung des extravasalen Druckes (COLE, 1961; YOUNG, 1950) und durch chirurgische Intervention zustande kommen. Extravasale Druckerhöhung kann bereits durch diagnostische Maßnahmen, aber auch schon vorher durch die normale Peristaltik, die Skelettmuskelbewegungen, Husten u.ä. hervorgerufen werden, was wegen einer Art konstanter "Massage" des Tumors zu einer Tumorzellablösung führen kann (MOORE, 1965). LIOTTA (1976) spricht deshalb von einer kontinuierlich über den ganzen Tag verteilten Freisetzung von Tumorzellen.

Die zweite Phase ist der intravasale Transport der in den Kreislauf gelangten Tumorzellen. Dabei kann es sich entweder um einen Embolus aus mehreren Zellen oder um Einzelzellen handeln, die durch Exfoliation von einer bereits in das Gefäß eingebrochenen Tumormasse, oder durch Infiltration bzw. passive Intravasation in die Blutbahn gelangt sind. Diese Zellen können intravasal zugrunde gehen, was am Nachweis morphologisch geschädigter Zellen erkennbar ist. Sie können ferner im sogenannten Primärfilter, z.B. in der Lunge, arretiert werden, aber auch dieses Kapillarfilter passieren (ENGEL, 1959; MOORE, 1957; ROBERTS, 1957; ZEIDMANN, 1952), wobei sich größere Zellen durch Verformung an-

passen (ZEIDMANN, 1965).

Die drei letzten Teilschritte der Metastasierung bestehen dann in der Adhäsion und anschließenden Infiltration noch teilungsfähiger Tumorzellen durch die Gefäßwand in das umgebene Gewebe mit nachfolgender Proliferation.

In der vorliegenden Arbeit wurde der passive Weg der Metastasierung, also die Intravasation durch extravasale Druckerhöhung, bzw. chirurgische Intervention untersucht. Durch präoperative Manipulationen wie insbesondere Hautdesinfektion über der tumortragenden Niere, oder operative Schritte wie der Mobilisation der Niere und dem Anlegen der Nierenstielklemme wurde von vielen Autoren eine massive Aussaat von Tumorzellen ins Blut nachgewiesen (JONASSON, 1961; LONG, 1960; ROBERTS, 1960;

ROBERTS, 1961/62; STRÄULI, 1964; WAGNER, 1968). Dabei wurden die verschiedensten Verfahren zum Nachweis und der Erkennung von Tumorzellen verwandt (ENGELL, 1955; GRIFFITH, 1965; HERBEUVAL, 1965; LONG, 1959; MALMGREN, 1958; MOORE, 1957).

Die durchweg nach morphologischen Gesichtspunkten beurteilten Proben galten noch bis vor einigen Jahren als bis zu 96,5 % positiv (DEMELLO, 1963). Heute ist jedoch sicher, daß viele der als maligne bezeichneten Zellen anderer Herkunft waren. So handelte es sich um monozytoide, lymphoide oder endotheliale Zellen, sowie um Megakaryozyten (ALEXANDER, 1960; CLIMIE, 1961; HÄMMERLI, 1963; HERBEUVAL, 1965; GOLDBLATT, 1965; SANDBERG, 1959; SCHIFFER, 1975; u.a.).

4.2. DNS-CYTOPHOTOMETRIE VON TUMORZELLEN

Aufgrund der dargestellten Schwierigkeiten für eine sichere morphologische Differenzierung wählten wir den Nachweis aneuploider Zellen im peripheren Blut mittels der quantitativen DNS-Messung, um die Aussaat von Tumorzellen während der verschiedenen Manipulationen über oder am Tumor zu untersuchen.

Dabei geht man davon aus, daß Tumorzellen einen den normalen Zellen gegenüber vermehrten DNS-Gehalt besitzen können (ATKIN, 1966; BÖHM u. SANDRITTER, 1975; LEUCHTENBERGER, 1954; PFITZER, 1978; PFITZER u. PAPE, 1973; SANDBERG, 1970; STOWELL u. COOPER, 1945). Dies entspricht dem Auftreten aneuploider chromosomaler Stammlinien (KOLLER, 1972).

Der Begriff der Stammlinie zur Charakterisierung einer Tumorzellpopulation wurde von MAKINO u. KANO (1952) und LEVAN u. HAUSCHKA (1952) geprägt als "Chromosomenstammlinie". Sie gibt die in einem Tumor vorherrschende Anzahl von Chromosomen an. SANDRITTER (1964) definiert den Begriff der DNS-Stammlinie als den häufigsten DNS-Gehalt in einer Zellpopulation. BÖHM u. SANDRITTER (1975) sprechen dann von einer Stammlinie, wenn das Histogramm eines Tumors eine bimodale Verteilung mit G1- und G2-Maxima aufweist, d.h. zu einem DNS-Grundwert gibt es einen korrelierenden Verdopplungsgipfel.

Der unimodale Typ eines DNS-Histogrammes, häufig bei undifferenzierten Tumoren, soll keine spezifische Stammlinie enthalten.

Dem ist die theoretische Überlegung entgegenzuhalten, daß jedes wachsende Gewebe eine bimodale Verteilungskurve aufweisen muß.

Entsprechend haben die Untersuchungen an 10.000 bis 300.000 Kernen mit dem Impulscytophotometer ergeben, daß eine unimodale Kurve ein technischer Artefakt ist, verursacht durch die zu geringe Anzahl an Messungen (GORYSCH u. PFITZER, 1975).

In der Literatur schwankt die zur Charakterisierung für erforderlich gehaltene Anzahl an Stichprobenmessungen zwischen 3 und 150 Kernen (ATKIN, 1966; BRANDAO, 1969; LEUCHTENBERGER, 1954; SANDRITTER, 1966; STEELE, 1963; STICH, 1960). Jedoch ergeben selbst

umfangreiche Messungen erhebliche Unsicherheiten (WARNKE, 1977), sodaß der Begriff der Stammlinie bei so geringer Zahl an Messungen, wie sie das Verfahren der Scanning-Cytophotometrie liefert, nur unter Vorbehalt angewandt werden sollte. Überdies bestehen bei der Interpretation eines DNS-Histogrammes mangels spezifischer Terminologie Schwierigkeiten, da zur Beschreibung Begriffe aus der Chromosomenanalyse und der Zellkinetik herangezogen werden (PFITZER et al., 1976). Treten z.B. DNS-Werte im Verhältnis von 1:2 auf, wie das im Fall M.H. zu sehen ist (Abb. 21), so können diese Zellen der G1- und G2-Phase derselben Tumorzellpopulation, oder aber einer Mischpopulation aus einer diploiden und einer tetraploiden Stammlinie entsprechen. Die Beschreibung eines Histogrammes wird daher besser nur durch Zahlenangaben mit dem Begriff des Contents (C), der für den haploiden Chromosomensatz steht, vorgenommen (PFITZER, 1975) und anschließend interpretiert.

Im Blut zirkulierende Tumorzellen können nur dann mit der quantitativen DNS-Messung als maligne identifiziert werden, wenn sie vom diploiden DNS-Gehalt normaler Zellen abweichen, d.h. wenn sie von einem aneuploiden Tumor abstammen. Das Auftreten dieser aneuploiden Tumoren wird in der Literatur in unterschiedlichem Prozentsatz angegeben (PFITZER et al., 1976; PFITZER u. PAPE, 1973; BÖHM u. SANDRITTER, 1975; SCHUMANN, 1977). Speziell bei hypernephroiden Karzinomen fanden BÖHM u. SANDRITTER (1975) unter 8 Tumoren einen tetra- und fünf aneuploide, während bei LEUCHTENBERGER (1954) und BÖHM (1971) nur jeweils ein aneuploider bei nur je einem untersuchten Tumor vorkam. COELHO (1974) hatte in seinem Patientengut nur drei diploide bzw. pseudodiploide Tumoren. Zusammengefaßt ergibt dies 8 aneuploide bei 5 diploiden, bzw. pseudodiploiden Fällen.

Bei den hier untersuchten 22 hypernephroiden Karzinomen fanden sich 11 (50 %) mit einer aneuploiden Stammlinie, 5 (23 %) weitere Tumoren hatten zwei Stammlinien, von denen mindestens eine im aneuploiden Bereich lag, während die zweite in 2 Fällen ebenfalls

aneuploid und in drei Fällen diploid war.

Diese letzte Gruppe der Tumoren nimmt hier insofern eine Sonderstellung ein, als sie im Blut zwar mit ihrem aneuploiden, nicht aber mit ihrem diploiden, bzw. pseudodiploiden Anteil mittels der DNS-Cytophotometrie identifiziert werden kann. Für diese, wie natürlich außerdem für alle rein diploiden, bzw. pseudodiploiden Tumoren ist die Methode der quantitativen DNS-Messung nicht zur Charakterisierung von Tumorzellen anwendbar.

Rein diploide, bzw. pseudodiploide Tumoren lagen in 27,3 % der Fälle vor, was über den Angaben der Literatur von 4 % (SANDRITTER, 1979; BÖHM u. SANDRITTER, 1975) oder auch von 10 % (PFITZER u. PAPE, 1973; COELHO u. PFITZER, 1974) für scanning-cytophotometrische Messungen liegt.

4.3. AUFTRETEN ZIRKULIERENDER TUMORZELLEN

Von 16 Fällen mit aneuploider Stammlinie wiesen nach der Scanning-Methode 11 (69 %) einen positiven Befund in mindestens einer Blutprobe auf. Nach den üblichen morphologischen Kriterien der Cyto-diagnostik waren 15 Fälle (94 %) positiv. Schlüsselt man diese Zahlen nach dem gewählten operativen Zugang auf, so fanden sich bei den 12 retroperitonealen Fällen mit aneuploider Stammlinie nach der Scanning-Methode in 8 (67 %) und morphologisch in 12 (100 %) Fällen positive Befunde. Die Anzahl der transperitoneal operierten Patienten war sehr gering. Von den 4 Fällen mit aneuploidem DNS-Wert waren drei (75 %) sowohl cytophotometrisch, als auch morphologisch positiv.

Vergleicht man nun die Ergebnisse der einzelnen Operationsphasen in Bezug auf den Tumorzellbefund im peripheren Blut, so fanden sich außer im Fall F.B., der in allen Proben eine massive Tumorzellaussaat zeigte, in jeder positiven Probe immer nur ganz vereinzelte Tumorzellen. Retroperitoneal finden sich in allen Proben in nahezu gleicher Verteilung morphologisch verdächtige Zellen. Cytophotometrisch treten diese noch in Ruhe in 2 Fällen (25 %, bezogen auf die 8 positiven Fälle), während des Lagerens in einem Fall (13 %), während der Desinfektion in 3 Fällen (38 %), zum Zeitpunkt des Hautschnittes in 3 Fällen (38 %), bei der Durchtrennung der Faszie in 2 Fällen (25 %), während des manuellen Vorgehens zum Nierenstiel in 3 Fällen (38 %) und nach der Nephrektomie in keinem Fall auf.

Bei den auf transperitonealem Weg operierten Patienten fanden sich cytophotometrisch in jedem der 3 positiven Fälle bereits präoperativ Tumorzellen, in einem der Fälle jedoch auch intraoperativ während des manuellen Vorgehens zum Nierenstiel. Diese Tumorzellen wurden nur in den zentral entnommenen, nicht aber in den peripher gewonnenen Blutproben gefunden. Ein "Schwall" von Tumorzellen, der aufgrund einer bestimmten Manipulation

ausgeschwemmt wurde, konnte jedoch bei beiden Operationstechniken nicht gefunden werden. Bereits in Ruhe lag in 5 aller aneuploiden Fälle (33 %) ein positiver Befund vor, und selbst in den zentral entnommenen Proben fanden sich in allen Stadien nur einzelne Zellen, was dagegen spricht, daß die Operation eine signifikante Erhöhung der Tumorzellen im zirkulierenden Blut verursachte. Sicher ist eine Zahl von 4 mittels transperitonealem Weg operierten Patienten mit aneuploidem Tumor zu gering, um sie der Anzahl der 12 retroperitoneal operierten gegenüberzustellen, zumal die positiven Befunde bei 2 transperitonealen Fällen zu einem Zeitpunkt auftraten, in dem die Manipulationen, wie die gesamte präoperative Phase, noch mit denen des retroperitonealen Vorgehens übereinstimmen. Anhand der hier untersuchten Fälle kann lediglich festgestellt werden, daß während der präoperativen Phase, die in beiden Operationen identisch ist, bei beiden Techniken nur vereinzelte Tumorzellen im peripheren Blut erscheinen. Ferner kann festgestellt werden, daß intraoperativ auch bei einem der 4 untersuchten transperitonealen Fällen mehrerer Tumorzellen gefunden wurden. Die Angabe einer massiven Steigerung der zirkulierenden Tumorzellen während der Mobilisation der Niere und des Anlegens der Nierenstielklemme kann jedoch nicht bestätigt werden (JONASSON, 1961; ROBERTS, 1962; GEMPP, 1970). Dabei ist zu berücksichtigen, daß die Blutproben bezüglich des Vorkommens von Tumorzellen nicht unbedingt repräsentativ sein müssen, da eine kontinuierliche Blutentnahme nicht möglich ist, sondern nur in Intervallen erfolgen kann. Zieht man außerdem in Betracht, daß die Belastung für den Patienten bei retroperitonealer Nephrektomie etwas geringer ist als bei transperitonealer Entfernung (GEMPP, 1970), daß auch bei letztgenannter Technik durch Wegdrängen des Darmes die Niere komprimiert wird, bevor der Nierenstiel abgeklemmt werden kann (Fall L.G.), so hat die Nephrektomie über einen retroperitonealen Zugang ihre Berechtigung nicht verloren. Das weitere Schicksal zirkulierender Tumorzellen im Blut wird

sehr unterschiedlich beurteilt. So wurden Fälle beobachtet mit einer großen Anzahl neoplastischer Zellen im Blut, die niemals Metastasen entwickelten (BALDUS, 1960), während andererseits Patienten mit negativen Blutbefunden disseminierte Metastasen entwickelten (SELLWOOD, 1964).

Darin, daß über die Bedeutung freier Tumorzellen im Blut keine prognostische Aussage gemacht werden kann, sind sich die meisten Autoren einig (LEE, 1976; WEXLER, 1976; ZEIDMANN, 1965). Sicher erreicht nur ein kleiner Anteil der Zellen das Stadium der Invasion. Ein wichtiger Faktor ist die spezifische Immunabwehr des Wirtsorganismus, die entweder die Tumorzellen zerstört (JONASSON, 1961; WEXLER, 1976) oder zu ruhenden Zellen neutralisiert (SCHIFFER u. LEVI, 1975), die dann bei gestörter Immunitätslage wieder reaktiviert werden können (FISHER u. FISHER, 1963). Es gibt daneben noch unspezifische Abwehrmechanismen wie Makrophagen-Aktivität oder Blutgerinnungsmechanismen (GRUNDMANN, 1979). Die Tumorzellen besitzen offensichtlich eine Plättchenaggregationskapazität und die Fähigkeit zur Fibrinkoagulation. Nach DONATI (1979) besitzen die Zellen einiger Tumoren kollagenolytische Aktivitäten, die einerseits zur Ablösung von Tumorzellen führen und andererseits die Permeabilität zu erhöhen vermögen. Durch vasoaktive Substanzen wie das Prostaglandin, dem neben anderen biologischen Eigenschaften auch die Regulation des Tumorzellwachstums zugeschrieben wird, soll der Metastasierungsprozess ebenfalls beeinflusst werden (DONATI, 1979).

Demgegenüber konnte POWLES (1979) keine signifikante Beeinflussung des Wachstums oder Überlebens von Tumorzellen durch Prostaglandinhemmer beobachten. Darüberhinaus scheinen humorale Faktoren der Gerinnung für die Arretierung von Tumorzellen an der Gefäßwand von Bedeutung zu sein (ZEIDMANN, 1965), da z.B. eine Antikoagulanttherapie die Metastasierungstendenz herabsetzt. Nach HILGARD (1979) gilt dies jedoch nur für die Antikoagulantien vom Kumarintyp, deren Antitumor-Aktivität mit dem Vitamin-K-Antagonismus

korreliert ist. Eine Cortisontherapie scheint andererseits die Adhärenz eines Tumorzellenbolus zu unterstützen (AGOSIN, 1952; WOOD, 1961).

Ein wichtiger Faktor zum Angehen der Metastasen ist die Lebensfähigkeit und das Proliferationsvermögen der zirkulierenden Zellen wie in vielen Bioassays bewiesen wurde (GRIFFITH, 1965; JONASSON, 1958; KETCHAM, 1974). So spricht FIDLER (1979) von einem hochselektiven Prozess, bei dem nur einzelne Zellklone unterschiedlich starke Metastasierungsfähigkeiten besitzen. Ein weiterer wesentlicher Schritt im Metastasierungsprozess ist die Arretierung in der Lunge. Zwar werden in der Lunge die meisten Tumorzellen arretiert, jedoch herrscht hier ein für das Wachstum der Zellen ungünstiges Milieu (v.d. BRENK, 1975), sodaß auch in diesem Organ viel weniger Metastasen entstehen, als nach den Blutbefunden erwartet werden müßten (WILLIS, 1948; COLE, 1961; v.d. BRENK, 1975).

Unabhängig von diesen Teilaspekten der Metastasierung erlaubt unsere Methode der DNS-Cytophotometrie Aufschlüsse über Zeitpunkt und Ausmaß im Blut zirkulierender Tumorzellen am Modell aneuploider Tumoren zu gewinnen. Auf diese Weise können äußere Einflüsse überprüft und das weitere Schicksal der Tumorzellen verfolgt werden.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei 22 Patienten mit hypernephroidem Karzinom wurden nach einem festgelegten Zeitplan prä-, intra- und postoperativ peripher und in 5 Fällen zusätzlich zentral Blut entnommen. 17 Nephrektomien wurden über einen retroperitonealen, 5 über einen transperitonealen Zugang vorgenommen.

Das Blut wurde mittels der FEULGEN-Cytophotometrie auf eventuell ausgeschwemmte Tumorzellen untersucht. Zur sicheren Identifizierung dieser Zellen wurde anhand von Tumorimprint- und Suspensionspräparaten die Stammlinie aller Tumoren durch DNS-Messung bestimmt. Von den 22 Tumoren waren 11 sicher aneuploid, 5 diploid bzw. pseudodiploid und 6 zeigten deutliche Hinweise auf zwei Stammlinien. Von diesen lagen bei 2 Fällen beide Stammlinien im sicher aneuploiden Bereich, bei drei Fällen lag eine Stammlinie im aneuploiden, eine im diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich, und ein Fall hatte beide Anteile des Tumors im diploiden, bzw. pseudodiploiden Bereich.

Von den 16 Fällen mit einer oder zwei aneuploiden Stammlinien wiesen nach der Scanning-Methode 11 Fälle (69 %) einen positiven Befund in mindestens einer Blutprobe auf. Davon entfielen 8 Fälle auf die retroperitoneal und 3 Fälle auf die transperitoneal durchgeführte Operation.

Während der verschiedenen Operationsphasen traten außer im Fall F.B., der in allen Proben eine massive Tumorzellaussaat zeigt, immer nur vereinzelte Tumorzellen auf. Dies gilt auch für den intraoperativen Zeitraum des manuellen Vorgehens zum Nierenstiel, in dem sowohl bei der retroperitonealen, als auch der transperitonealen Technik vereinzelt positive Befunde erhoben wurden. Die Ergebnisse zeigen, daß die DNS-Cytophotometrie bei aneuploiden Tumoren eine sichere Identifizierung von Tumorzellen im Blut ermöglicht, daß die Methode jedoch bei Tumoren mit diploiden,

bzw. pseudodiploiden Stammlinien nicht anwendbar ist. Sie zeigen außerdem, daß die Nephrektomie bei hypernephroidem Karzinom über einen retroperitonealen Zugang keine höhere Rate an positiven Blutbefunden verursacht, als die über einen transperitonealen Zugang und damit ihre Berechtigung zur Tumorentfernung nicht verloren hat.

LITERATURVERZEICHNIS

1. AGOSIN, M.,
R. CHRISTEN,
O. BADINEZ,
G. GASIC,
A. NEGHME,
O. PIZARRO,
A. JARPA: Cortison-induced Metastases of Adeno-
carcinoma in Mice.
Proc. Soc. Exper. Biol. & Med. 80,
128-131, 1952.
2. ALEXANDER, R.F.,
A.J. SPRIGGS: The differential diagnosis of tumor
cells in circulation blood.
J. Clin. Path. 13, 414-424, 1960.
3. ATKIN, N.B.,
B.M. RICHARDS: Desoxyribonucleic acid in human tumors
measured by microspectrophotometry of
Feulgen stain: a comparison of tumors
arising at different sites.
Brit. J. Cancer 10, 769-786, 1956.
4. ATKIN, N.B.,
G. MATTINSON,
M.C. BAKER: A comparison of the DNA-content and
chromosome number of fifty human tumors.
Brit. J. Cancer 20, 87-101, 1966.
5. BADER, S.: Distribution of desoxyribonucleic acid
in tumor nuclei.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 82, 312-315,
1953.
6. BALDUS, F.: On the detection of tumor cells in cir-
culating blood.
Klin. Wochenschr. 38, 845-846, 1960.
7. BATSON, O.V.: The vertebral system of veins as a
means for cancer dissemination.
In: Progress in clinical cancer, III.
Hrsg. v. J.M. Ariel, Grune & Stratton,
New York, 1967.
8. BAUKE, J.,
K. SCHÖFFLING: Polyploidy in human malignancy Cancer
22, 686-694, 1968.
9. BÖHM, N.,
E. SPRENGER,
W. SANDRITTER: Fluorescence cytophotometric Feulgen-
DNA measurements of benign and malig-
nant human tumors.
Beitr. Path. 142, 210-220, 1971.
10. BÖHM, N.,
W. SANDRITTER: DNA in human tumors: a cytophotometric
study.
Curr. Top. Path. 60, 151-219, 1975.

11. BRANDAO, H.J.: DNA content in epithelial cells of dysplasia of the uterine cervix. Histologic and microspectrophotometric observations. Acta Cytol. (Philad.) 13, 232-237, 1969.
12. BRÜHL, P.,
W. VAHLENSIECK: Das metastasierte hypernephroide Nieren-
kerzinom. Therapiewoche 23, 2772-2779, 1973.
13. CLIMIE, A.R.,
T.L. JARKOWSKI,
A.T. SALVAGGIO,
R.. McDONALD: Atypical cells in the blood stream -
benign or malignant? Harper Hosp. Bull. 19, 105-113, 1961.
14. COELHO, C.P.,
P. PFITZER: Zytophotometrische Bestimmung des DNS-
Gehaltes von Zellkernen verschiedener
Tumoren und ihrer Metastasen. Arch. Geschwulstforsch. 42, 217-238.
15. COLE, W.H.,
G.O. McDONALD,
S.S. ROBERTS,
H.W. SOUTHWICK: Dissemination of Cancer. Prevention and
Therapy. New York: Appleton-Century-Crofts, 1961.
16. DE BRUYN, P.,
C. YONGOCK: Entry of Metastatic Malignant Cells into
the Circulation from a Subcutaneously
Growing Myelogenous Tumor. JNCI, Vol. 62, NO 5, 1221-1223, 1979.
17. DONATI, M.B.,
A. POGGI: Interactions between cancer cells and
Factors of the hemostatic System.
Gesellsch. zur Bekämpfung der Krebs-
krankheiten. Nordrhein-Westf. E.V.,
XI. Internationales Symposium,
Metastatic Tumor Growth, Düsseldorf,
1979.
18. DRESDEN, M.H.,
S.A. HEILMANN,
J.D. SCHMIDT: Collagenolytic enzymes in human neo-
plasms. Cancer Res. 32, 993, 1972.
19. ENGELL, H.C.: Cancer cells in the circulation blood. Acta chir. Scand. Suppl. 201, 10-70, 1955.
20. ENGELL, H.C.: Cancer Cells in Blood; 5 to 9 Year
Follow-Up Study. Ann. Surg. 149, 457-461, 1959.

21. FIDLER, I.J.,
M.L. KRIPKE: Metastatic Heterogeneity of Cells from Murine Neoplasms. Gesellschaft. zur Bekämpfung der Krebskrankheiten. Nordrhein-West. E.V., XI. Internationales Symposium, Metastatic Tumor Growth, Düsseldorf, 1979.
22. FISHER, R.,
B. FISHER: Experimental study of factors influencing development of hepatic metastases from circulating tumor cells. Acta Cytol. 9, 146-159, 1965.
23. FRIED, J.: Skeletal and pulmonary metastasis from cancer of the kidney, prostate, and the bladder. Am. J. Roentgenol. 55, 153-164, 1946.
24. GEMPP, F.A.: Der operative Zugang in der Nierentumchirurgie. Helvetia Chir. Acta, 4, 395-404, 1970.
25. GOLDBLATT, S.A.,
E.M. NADEL: Cancer cells in the circulating blood: A critical review. II. Acta Cytol. 9, 1965.
26. GORYSCH, H.,
P. PFITZER: Vergleichende Messungen an Ergüssen mit dem Impulscytophotometer und dem Scanning-Mikroskopphotometer. In: Impulscytophotometrie (Hrsg.: Andreef, M.). Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1975.
27. GRIFFITH, J.D.,
A.J. SALSURY: Circulating cancer cells. Thomas, Springfield/III. 1965.
28. GRUNDMANN, E.: Gesellschaft. zur Bekämpfung der Krebskrankheiten Nordrhein-West. E.V., XI. Internationales Symposium, Metastatic Tumor Growth, Düsseldorf, 1979.
29. HAASE, St.,
J. KREIDLER,
J. PETZEL: Comparative Study of malignant melanoma by Flow Cytometry and histological examination. Fourth International Symposium on Flow Cytometry. VOSS, NORWAY, 4-8 June, 1979.
30. HÄMMERLI, G.,
P. STRÄUBLI: Osteoklasten im peripheren Blut. Ein Beitrag zur Differentialdiagnose von Tumorzellen im Blut. Klin. Wschr. 41, 396-398, 1963.

31. HERBEUVAL, R.,
H. HERBEUVAL: Cellules cancéreuses et insolites du sang circulant. Masson, Paris, 1965.
32. HILGARD, P.: Metastatic Spread and altered Blood Coagulability. Gesellsch. zur Bekämpfung der Krebskrankheiten, Nordrhein-West. E.V., XI. Internationales Symposium, Metastatic Tumor Growth, Düsseldorf, 1979.
33. JONASSON, O.: The viability of circulating cells in experimental cancer. Surg. Forum 9, 577-580, 1958.
34. JONASSON, O.,
L. LONG,
S. ROBERTS,
E. MCGREW,
E.H. McDONALD: Cancer cells in circulating blood during operative management of genitourinary tumors. J. Urol. 85, 1-12, 1961.
35. KETCHAM, A.S.,
H. WEXLER: Effects of removal of primary tumor on production and reduction of metastases. An experimental review. Excerpta Medica 5, 47-63, 1974.
36. KOLLER, P.C.: The role of chromosomes in cancer biology. Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York, 1972.
37. LEE, V.W.,
T. CIANG,
S.D. DEODHAR: Bioassay for Quantitating Circulating Tumor Cells in a Syngeneic Mouse Tumor System. Cancer Res., 36, 2053-2058, 1976.
38. LEUCHTENBERGER, C.,
R. LEUCHTENBERGER,
A.M. DAVIS: A microphotometric study of the desoxyribose nucleic acid (DNA) content in cells of normal and malignant human tissues. Amer. J. Path. 30, 86-85, 1954.
39. LEVAN, A.,
T.S. HAUSCHKA: Chromosome numbers of three mouse ascites tumors. Hereditas (Lund) 38, 251-255, 1952.
40. LIOTTA, L.A.,
J. KLEINERMAN,
G.M. SAIDEL: The significance of hematogenous tumor cell clumps in the metastatic process. Cancer Res. 36, 889-894, 1976.

41. LIOTTA, L.A.,
S. GARBISA,
K. TRYGGVASON,
P.G. ROBEY,
J.C. MURREY: Interaction of metastatic tumor cells
with basement membrane collagen.
Gesellsch. zur Bekämpfung der Krebs-
krankheiten, Nordrhein-Westf. E.V.,
XI. Internationales Symposium,
Metastatic Tumor Growth, Düsseldorf,
1979.
42. LONG, L.,
S. ROBERTS,
R. McGRATH,
E. McGREW,
H.W. COLE: Cancer cells in the blood stream.
A.M.A. Arch. Surg. 80, 639-645, 1960.
43. LONG, L.,
S. ROBERTS,
R. McGRATH,
E. McGREW: Simplified technique for the separation
of cancer cells from blood.
J.Am.M.Ass., 1970, 1785-1788, 1959.
44. LUCKE, B.,
H. SCHLUMBERGER: Tumors of the kidney, renal pelvis,
and ureter.
Atlas of Tumor Pathology. Fas. 30,
Washington, D.C.: Armed Forces Institute
of Pathology, 1957.
45. MAKINO, S.,
K. KANO: Cytological studies of tumors. IX.
Characteristic chromosome individuality
in tumor strain-cells in ascites tumor
of rats.
J. Nat. Cancer Inst. 13, 1213-1234, 1952
46. MALMGREN, R.A.,
J.C. PRUITT,
P.R. del VECCHIO,
J.F. POTTER: A method for cytologic detection of
tumor cells in whole blood.
J. Nat. Cancer Inst. 20, 1203-1213, 1958
47. McDONALD, J.,
J. PRIESTLEY: Malignant tumors of the kidney. Surgical
and prognostic significance of tumor
thrombosis of the renal vein.
Surg. Gynec. & Obst., 77, 295-306, 1943.
48. MESSMER, B.,
W. SINNER: Der vertebrale Metastasierungstyp.
Dtsch. Med. Wschr. 91: 2061-2066, 1967.
49. MOORE, G.E.,
A. SANDBERG,
J. R. SCHUBARG: Clinical and Experimental Observations
of the Occurrence and Fate of Tumor Cells
in the Blood Stream.
Ann. Surg. 146, 580-587, 1957.
50. MOORE, G.E.,
A.A. SANDBERG: Clinical aspects of cancer cells in the
blood.
Acta Cytol. 9, 175-184, 1965.

51. MOSTOFI, F.K.: Pathological aspects and spread of carcinoma of the bladder.
JAMA 206, 1764-1769, 1968.
52. PFITZER, P.: Die Charakterisierung von Tumorzellpopulationen durch DNS-Messungen (Referat).
Zbl. Path. 119, 457, 1975.
53. PFITZER, P.: Analysis of tumor cell population by DNA cytophotometry.
In: NIEBURGS, H.E.: Detection and Prevention of Cancer.
Marcel Dekker, New York, 1978.
54. PFITZER, P.,
K. VYSKA,
G. STECHER: Zur Analyse von DNA-Histogrammen durch Computer.
Beitr. Path. 159, 157-185, 1976.
55. PFITZER, P.,
H.-D. PAPE: Characterisation of tumor cell populations by DNA-measurements.
Acta Cytol. 17, 19-26, 1973.
56. PIMENTA de MELLO, R.: A new method for detection of cancer cells in peripheral blood using the Bertalanffy fluorochrome method.
Acta Cytol., 7, 62-65, 1963-
57. POWLES, T.J.: Prostaglandins and Metastases.
Gesellsch. zur Bekämpfung der Krebskrankheiten, Nordrhein-Westf. E.V., XI. Internat. Symposium, Metastatic Tumor Growth, Düsseldorf, 1979.
58. RICHES, E.,
L. GRIFFITH,
A. THACKREY: New growths of the kidney and ureter.
Brit. J. Urol., 23, 297-365, 1951.
59. ROBERTS, S.,
A.L. WATNE,
R.G. McGRATH,
E.A. McGREW,
S. NAMOS,
W.H. COLE: Cancer cells in the circulating blood.
Surg. Forum 8, 146-151, 1957.
60. ROBERTS, S.,
L. LONG,
O. JONASSON,
R. McGRATH,
E. McGREW,
W.H. COLE: The isolation of cancer cells from the blood stream during uterine curettage.
Surg. Gyn. & Obst., 111, 1, 2-11, 1960.

61. ROBERTS, S.,
O. JONASSON,
L. LONG,
R. McGRATH,
E. McGREW,
W.H. COLE: Clinical significance of cancer cells
in the circulating blood. Two- to
five-year survival.
Ann. Surg. 154, 362-371, 1961.
62. ROBERTS, S.,
O. JONASSON,
L. LONG,
R. McGRATH,
E. McGREW,
W.H. COLE: Relationship of cancer in the circu-
lating blood to the operation.
Cancer, 15, 232-240, 1962.
63. SANDBERG, A.,
G.E. MOORE: Atypical cells in the blood of cancer
patients. Differentiation from tumor
cells.
Nat. Cancer Inst. 22, 555-559, 1959.
64. SANDBERG, A.A.,
D.K. HOSSFELD: Chromosomal abnormalities in human
neoplasia.
Ann. Rev. Med. 21, 379-408, 1970.
65. SANDRITTER, W.: Cytophotometrische Untersuchungen am
Portiokarzinom und seinen Vorstufen.
Verh. dtsh. Ges. Path. 48, 34-43,
1964.
66. SANDRITTER, W.,
M. CARL,
W. RITTER: Cytophotometric measurements of the DNA
content of human malignant tumors by
means of the Feulgen reaction.
Acta Cytol. (Philad.) 10, 26-30, 1966.
67. SANDRITTER, W.: Cytomorphometrische Methoden zur Ab-
grenzung normaler und maligner Zellen.
Verh. dtsh. Krebsges. 2, 1979.
68. SCHIFFER, C.A.,
J.A. LEVI,
P.H. WIERNIK: The significance of abnormal circula-
ting cells in patients with Hodgkin's
disease.
Br. J. Haematol., 31, 177-183, 1975.
69. SCHUMAN, J.,
J. ZANTE,
W. GÖHDE: Aneuploidies in solid human tumors.
Third Internat. Symp. Pulse-Cytophoto-
metry, Gent: European Press 1977.
70. SELLWOOD, R.A.,
S. KUPER,
J.I. BURN,
E.N. WALLACE: Circulating cancer cells.
Brit. Med. J. 1, 1683-1686, 1964.

71. SIGEL, A.,
L. HELD: Die Zugangswege der Nierenchirurgie.
Urologe 2, 144-153, 1963.
72. STECHER, G.,
H. BLOEMERTZ,
P. PFITZER: Sarkom 180: Wachstum und Regression.
Vergleichende Messungen mit dem Impuls-
und Scanningzytrophotometer sowie histo-
logische, zytologische und autoradio-
graphische Untersuchungen.
Beitr. Path. 58, 255-286, 1976.
73. STELLE, H.D.,
S.L. MANOCHA,
H.F. STICH: Desoxyribonucleic acid content of epi-
dermal in-situ carcinomas.
Brit. Med. J. 2, 1314-1315, 1963.
74. STICH, H.F.: The DNA content of tumor cells. II.
Alterations during formation of hepa-
tomas in rats.
J. Nat. Cancer Inst., 24, 1283-1297,
1960.
75. STOWELL, R.E.,
Z.K. COOPER: The relative thymonucleic acid content
of human normal epidermis, hyperplastic
epidermis and epidermoid.
Cancer Res. 5, 295-301, 1945.
76. STRÄULI, P.: Bedingungen der Entwicklung und Implan-
tation der metastatischen Tumorzellen.
In: Krebsmetastasierung auf dem Blut-
weg.
Symposium 27. bis 29. Juni, 1963, Genf,
Schwabe & Co., Basel, 1964.
77. STRÄULI, P.: Interaction of locomotive and lytic
activities of cancer cells in invasion.
Gesellsch. zur Bekämpfung der Krebs-
krankheiten, Nordrhein-Westf. E.V.,
XI- Internat. Symposium, Metastatic
Tumor Growth, Düsseldorf, 1979.
78. VAN DEN BRENK, H.A.,
W.M. BURCH,
H. KELLY,
C. ORTON: Venous diversion trapping and growth
of blood-borne cancer cells en route
to lungs.
Brit. J. Cancer, 31, 46-61, 1975.
79. WAGNER, D.: Trophoblastic cells in the blood stream
in normal and abnormal pregnancy.
Acta Cytol. (Philad.) 12, 137, 1968.
80. WALTHER, H.E.: Krebsmetastasen.
Benno-Schwabe-Verlag, Basel, 1948.

81. WARNKE, H.: Vergleichende zytophotometrische DNA-Untersuchungen an menschlichen, rasch wachsenden Hirntumoren. Diss., Köln, 1977.
82. WEXLER, H., W.F. SINDELAR, A.S. KETCHAM: Analysis of a bioassay for circulating tumor cells in two murine malignancies: correlations with tumor age and extent of metastatic disease. J. Surg. Res., 20, 107-113, 1976.
83. WILLIS, R.A.: Pathology of tumors. London: Butterworth & Co. Ltd., 1948.
84. WOOD, S., E. HOLYOKE, J.H. YARDLEY: Mechanisms of metastasis produced by blood-borne cancer cells. Can. Cancer Conf., 4, London: Academic Press, 1961.
85. WOOD, S.: Experimental studies of the intravascular dissemination of ascitic V2 carcinoma cells in the rabbit, with special reference to fibrinogen and fibrinolytic agents. Bull. Schweiz. Akad. med. Wiss. 20, 92, 1964.
86. WOOD, S., P. STRÄULI: Tumor invasion and metastasis. In: Cancer Medicine, hrsg. von J.F. Holland, E. Frei III., Lea & Febiger, Philadelphia, 1973.
87. YOUNG, J.S., H.D. GRIFFITH: The dynamics of parenchymatous embolism in relation to the dissemination of malignant tumors. J. Path. Bact. 62, 293-311, 1950.
88. ZEIDMANN, I., J. BUSS: Transpulmonary passage of tumor cell emboli. Cancer Res., 12, 731-733, 1952.
89. ZEIDMANN, I.: The fate of circulating tumor cells. Acta Cytol., 9, 136-140, 1965.

LEBENS LAUF

Am 30. Oktober 1948 wurde ich als Tochter des Juristen Gottfried Haase und seiner Ehefrau Ursula Haase, geb. Grohnert, in Usingen im Taunus geboren.

1955 zogen wir nach Düsseldorf, wo ich am 5. Juli 1967 an der Städtischen Goethe-Schule die Reifeprüfung bestand. Nach zweijähriger Praktikantenzeit in der Adler-Apotheke in Düsseldorf bestand ich am 5. September 1969 vor der Apothekerkammer Nordrhein das pharmazeutische Vorexamen.

Im Sommersemester 1972 nahm ich an der Universität Düsseldorf das Studium der Medizin auf und legte im Mai 1979 das Staatsexamen ab.

Meine Weiterbildung zum Arzt für Kinderheilkunde werde ich im Februar 1980 beginnen.

